

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK SARANG LEBAH
DAN MADU HUTAN DARI LUWU UTARA DENGAN
METODE DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL)**



Skripsi

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains Kimia
Jurusan Kimia Pada Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

NABILA ALIYAH IDRIS
NIM: 60500113077

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN
MAKASSAR**

2017

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nabila Aliyah Idris
NIM : 60500113077
Tempat/ Tgl Lahir : Lambara Harapan/ 14 April 1996
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Alamat : Jl. Perintis Kemerdekaan III BTN Hamzy Blok B/20
Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah dan
Madu Hutan dari Luwu Utara dengan Metode DPPH
(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran penuh bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa skripsi merupakan duplikat, tiruan, plagiat atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Samata-Gowa, Agustus 2017

Penyusun



Nabila Aliyah Idris

NIM: 60500113077

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Luwu Utara dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)” yang disusun oleh **Nabila Aliyah Idris**, NIM : 60500113077 mahasiswa jurusan Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang munaqasyah yang diselenggarakan pada hari senin 21 Agustus 2017 bertepatan 28 Dzulqaidah 1438 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam Ilmu Kimia, jurusan Kimia (dengan beberapa perbaikan).

Samata-Gowa, 21 Agustus 2017

28 Dzulqaidah 1438 H

DEWAN PENGUJI :

| | | |
|---------------|---------------------------------------|---------|
| Ketua | : Dr. Wasilah, S.T., M.T | (.....) |
| Sekretaris | : Aisyah, S.Si., M.Si | (.....) |
| Munaqisy I | : Asriani Ilyas, S.Si., M.Si | (.....) |
| Munaqisy II | : H. Asri Saleh, ST., M.Si | (.....) |
| Munaqisy III | : Dr. Tasmin Tangngareng, M.Ag | (.....) |
| Pembimbing I | : Dr. Maswati Baharuddin, S.Si., M.Si | (.....) |
| Pembimbing II | : Sappewali, S.Pd., M.Si | (.....) |

Diketahui oleh :

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar



Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag

NIP : 196912051993031001

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu ‘alaikum wr. wb.

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah swt yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya sehingga skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Luwu Utara dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)”** ini dapat terselesaikan dengan penuh perjuangan dan doa, sekaligus menjadi syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.

Salam dan shalawat atas junjungan Nabi Besar Muhammad saw, nabi yang telah membawa umat manusia dari alam kegelapan menuju ke alam terang benderang, beserta orang-orang yang senantiasa istiqamah di jalannya. Terima kasih penulis ucapkan kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penelitian skripsi ini. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan, utamanya kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda Idris dan ibunda Yuliana Husain untuk nasehat, motivasi dan dukungan yang selalu membangkitkan semangat untuk ananda tercinta. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Musafir Pababbari, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

2. Bapak Prof. Dr. Arifuddin, M.Ag, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
3. Ibu Sjamsiah, S.Si., M.Si., Ph.D, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
4. Ibu Aisyah, S.Si., M.Si, selaku sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
5. Ibu Dr. Maswati Baharuddin, M.Si, selaku pembimbing I yang berkenan memberikan kritik dan saran serta bimbingan dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Sappewali, S.Pd., M.Si, selaku pembimbing II yang telah berkenan meluangkan waktu dan tenaganya dalam membimbing dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
7. Ibu Asriani Ilyas, S.Si., M.Si, bapak H. Asri Saleh, ST., M.Si dan bapak Dr. Tasmin Tangngareng M.Ag selaku penguji yang senantiasa memberikan kritik dan saran guna menyempurnakan skripsi ini.
8. Segenap Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar yang telah membantu dan memberikan ilmu kepada penulis.
9. Musyawirah Baharuddin, S.PdI, selaku Staf Jurusan Kimia dan seluruh staf karyawan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar yang telah membantu dalam persuratan demi terselenggaranya skripsi ini.

10. Para laboran Jurusan Kimia, Kak Awaluddin Ip, S.Si., M.Si, kak Ahmad Yani, S.Si, Kak Andi Nurahma, S.Si, Kak Ismawanti, S.Si, Kak Nuraini, S.Si dan terkhusus untuk Kak Fitria Azis, S.Si., S.Pd terima kasih banyak atas bantuan dan dukungannya.
11. Bapak Jufri Dg. Pole, selaku kepala dusun Galesong desa Lonjoboko Kecamatan Parangloe yang telah memberikan motivasi yang membangun dalam proses penyelesaian skripsi ini.
12. Saudara-saudaraku Asri Ayu Dianingsih, Nur Winda Sahara, Muammar Mahdi dan Raihan Fahri Idris, terima kasih atas doa serta dukungannya dan kesabarannya dalam memberikan motivasi.
13. Sahabat seperjuangan Asrianti, Kasmawati, Muharam, Nada Pratiwi, Nurul Azizah, Sari Bulan, Syukrianto, Sukarno dan Wahida F. Ramadhani sekaligus saudara seperjuangan di jurusan Kimia angkatan 2013, segenap senior dan junior serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.
14. Rekan Penelitian saya Hartini dan Ika Prestianti yang senantiasa menemani dari awal hingga penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak dan dapat bernilai ibadah di sisiNya. Amin ya Rabbal Alamin.

Wassalamu ‘alaikum wr. wb.

Makassar, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

| | Hal |
|--|------|
| JUDUL | i |
| PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI | ii |
| LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI | iii |
| KATA PENGANTAR | iv |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR GAMBAR | ix |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| ABSTRAK | xii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1-7 |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 7 |
| C. Tujuan Penelitian | 7 |
| D. Manfaat Penelitian | 7 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 8-25 |
| A. Tinjauan Umum Lebah Madu Hutan | 8 |
| B. Metabolit Sekunder | 12 |
| C. Ekstraksi | 18 |
| D. Radikal Bebas | 20 |
| E. Antioksidan | 21 |
| F. Metode DPPH | 22 |
| G. Spektrofotometer UV-Vis | 25 |

| | | |
|-----------------|-----------------------------|-------|
| BAB III | METODOLOGI PENELITIAN | 26-31 |
| | A. Waktu dan Tempat | 26 |
| | B. Alat dan Bahan | 26 |
| | C. Prosedur Kerja | 27 |
| BAB IV | HASIL DAN PEMBAHASAN | 32-55 |
| | A. Hasil Penelitian | 32 |
| | B. Pembahasan | 37 |
| BAB V | PENUTUP | 56 |
| | A. Kesimpulan | 56 |
| | B. Saran | 56 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 57-60 |
| LAMPIRAN | | 61-93 |
| BIOGRAFI | | |



DAFTAR GAMBAR

| | Hal |
|--|-----|
| Gambar 2.1 Struktur Dasar Flavonoid | 15 |
| Gambar 2.2 Struktur Kerangka Asam Fenolat | 16 |
| Gambar 2.3 Struktur Senyawa Tanin | 18 |
| Gambar 2.4 Reaksi antara DPPH dengan Senyawa Antioksidan | 23 |
| Gambar 4.1 Mekanisme Reaksi Pembentukan Garam Flavilium | 39 |
| Gambar 4.2 Reaksi Uji Fenolik | 40 |
| Gambar 4.3 Reaksi Tanin dengan FeCl_3 | 41 |
| Gambar 4.4 Kurva Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Ekstrak Kantong Madu | 44 |
| Gambar 4.5 Kurva Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Ekstrak Kantong Polen | 45 |
| Gambar 4.6 Kurva Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Ekstrak Propolis | 46 |
| Gambar 4.7 Kurva Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Ekstrak Kantong Telur | 47 |
| Gambar 4.8 Kurva Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Ekstrak Madu | 48 |
| Gambar 4.9 Kurva Hubungan Konsentrasi dan % Inhibisi Asam Askorbat | 49 |
| Gambar 4.10 Reaksi DPPH dengan Flavonoid | 52 |
| Gambar 4.11 Dugaan Reaksi Asam Fenolat dengan DPPH | 52 |
| Gambar 4.12 Dugaan Reaksi Tanin dengan DPPH | 53 |
| Gambar 4.13 Reaksi Asam Askorbat dengan DPPH | 54 |

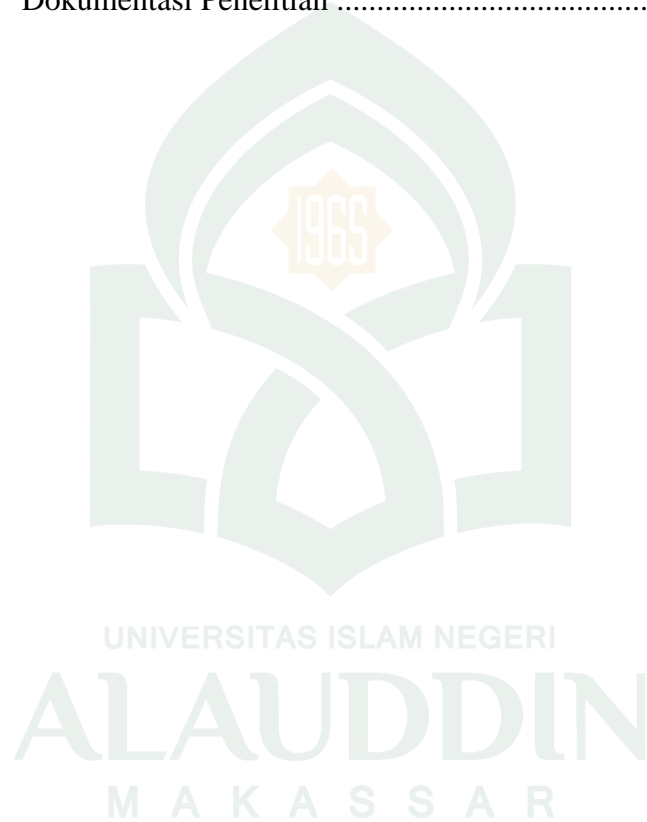
DAFTAR TABEL

| | Hal |
|--|-----|
| Tabel 4.1 Hasil Evaporasi Ekstrak Sarang Lebah dan Madu dengan Pelarut Metanol | 31 |
| Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Sarang Lebah dan Madu dengan Pelarut Metanol | 32 |
| Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kantong Madu | 33 |
| Tabel 4.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kantong Polen | 33 |
| Tabel 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Propolis | 34 |
| Tabel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kantong Telur | 34 |
| Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Madu | 35 |
| Tabel 4.8 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat | 35 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | Hal |
|--|-----|
| Lampiran 1 Skema Penelitian | 61 |
| Lampiran 2 Skema Prosedur Kerja | 62 |
| Lampiran 3 Analisis Data | 69 |
| Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian | 83 |



ABSTRAK

Nama : Nabila Aliyah Idris
NIM : 60500113077
Judul : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Luwu Utara dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Sarang lebah dan madu hutan banyak mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, asam fenolat dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak dan untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) dari ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari Luwu Utara. Metode ekstraksi dalam penelitian ini dilakukan menggunakan maserasi dengan pelarut metanol dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan mengukur serapan absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka semakin besar aktivitas antioksidan yang ditandai dengan menurunnya nilai IC_{50} . Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak sarang lebah yaitu kantong madu, kantong telur, propolis dan ekstrak kantong polen yang masing-masing memiliki nilai IC_{50} sebesar 3160,57 ppm, 5486,15 ppm, 5787,77 ppm, 7291,07 ppm dan aktivitas antioksidan terendah terdapat pada ekstrak madu dengan nilai IC_{50} sebesar 18907,5 ppm.

Kata Kunci : Antioksidan, madu hutan, metode DPPH dan sarang lebah.

ABSTRACT

Name : Nabila Aliyah Idris
NIM : 60500113077
Title : The Test of Hive Ekstract and Forest Honey Antioxidant Activity from North Luwu by Using DPPH Method (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

The bees hive and forest honey containing much secondary metabolite compound in form flavonoid, fenolat acid and tannin which potentially as antioxidant in counteracting free radicals. The purpose of this research is to know the ekstract antioxidant activity and determine the value of IC_{50} (*Inhibitory concentration*) of hive bees and forest honey from North Luwu. Extraction method of this research was done by using maceration with solvent and testing of antioxidant activity by using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) with measuring of absorbance absorption at maximum wavelengths using spectrophotometer UV-Vis.

The research result shows that, with increasing of concentration extract, the large of antioxidant activity characterized by the decrease of score IC_{50} . The highest antioxidant activities are the hive extract namely honey pouch, egg pouch, propolis and pollen pouch extract. Each of them has score 3160,57 ppm, 5486,15 ppm, 5787,77 ppm, 7291,07 ppm and the lowest antioxidant activity at IC_{50} with score 18907,5 ppm.

Keywords: Antioxidant, forest honey, DPPH method and a hive.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kemajuan zaman dewasa ini telah membuat sebagian besar masyarakat mengalami perubahan pola hidup yang kurang sehat termasuk diantaranya pola makan. Masyarakat cenderung memilih hal-hal yang bersifat cepat dan instan tanpa memperhatikan efek samping dibalik pola makan yang tidak tepat. Makanan, lingkungan serta pola hidup yang tidak sehat merupakan faktor yang dapat mempengaruhi kesehatan. Bahaya lingkungan yang berasal dari radiasi, polusi, asap rokok, makanan dan minuman serta pola hidup yang tidak sehat akan memicu terbentuknya radikal bebas.

Radikal bebas merupakan suatu senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh dan bersifat sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya sehingga dapat merusak sistem imunitas tubuh. Untuk mencapai kestabilan, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Radikal bebas yang berlebih dapat menyerang sel-sel dalam tubuh terutama yang rentan seperti lipid dan protein (Selawa, dkk., 2013: 19). Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan apabila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti penuaan dini, kanker, lever serta penyakit degeneratif lainnya. Oleh karena itu, tubuh memerlukan pertahanan untuk menetralkan radikal bebas seperti senyawa antioksidan (Huliselan, dkk., 2015: 156).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghilangkan, menghentikan atau memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas. Mekanisme kerja senyawa antioksidan salah satunya yaitu dengan cara mendonorkan atom hidrogen

atau proton kepada senyawa radikal bebas sehingga senyawa radikal menjadi lebih stabil. Antioksidan sintetik yang sering digunakan oleh masyarakat yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT) dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ). Namun pada penggunaannya, antioksidan sintetik tersebut menimbulkan efek samping seperti dapat merusak paru-paru dan hati serta jika dikonsumsi secara terus menerus akan bersifat karsinogenik dalam tubuh (Fitriana, dkk., 2015: 657). Efek samping yang ditimbulkan oleh penggunaan antioksidan sintetik dapat dihindari dengan menggunakan antioksidan alami yang lebih aman dan lebih mampu dalam mengurangi radikal bebas dalam tubuh (Huliselan, dkk., 2015: 156). Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami adalah madu yang diproduksi oleh lebah madu hutan.

Lebah madu hutan merupakan penghasil utama madu di Indonesia yang mendukung sektor ekonomi nasional. Kelangsungan hidup lebah madu hutan didukung oleh ketersediaan sumber pakan dan tempat persarangan. Selain memanfaatkan tumbuhan hutan, lebah madu hutan juga memanfaatkan tumbuhan liar dan tanaman pertanian yang ada di sekitar hutan sebagai sumber pakannya untuk memproduksi madu (Nagir, 2016: 1). Madu *dorsata* merupakan jenis madu hutan yang banyak diproduksi di hutan daerah Luwu Utara yang memiliki kadar antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan madu ternak. Penelitian yang dilakukan oleh Mohamed dkk., (2010) mengatakan bahwa diantara madu yang dihasilkan oleh lebah *cerana*, *millefera* dan *dorsata* didapatkan bahwa madu dari lebah *dorsata* memiliki kandungan asam fenolat dan flavonoid yang tertinggi. Produk tersebut bekerjasama untuk membuktikan sinergi dari efek antioksidan. Flavonoid dan asam fenolik mampu menangkap radikal bebas sehingga membentuk radikal baru yang relatif lebih stabil dan tidak berbahaya bagi tubuh (Widyaningsih,

2010: 112), sebagaimana dijelaskan dalam firman Allah swt dalam QS Al-Nahl/16: 68-69 bahwa madu dapat dimanfaatkan sebagai obat yang mampu menyembuhkan berbagai penyakit pada manusia.

وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنْ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ (٦٨)
ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا ۚ تَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ
أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (٦٩)

Terjemahnya:

“Dan Tuhanmu mengilhamkan kepada lebah, “Buatlah sarang di gunung-gunung, di pohon-pohon kayu dan di tempat-tempat yang dibikin manusia (68) Kemudian makanlah dari segala (macam) buah-buahan lalu tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu). “Dari perut lebah itu keluar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sungguh pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir (69)” (Departemen Agama RI, 2007: 274).

Sedangkan dalam Shahih Al-Bukhari, dari Ibnu ‘Abbas r.a, Rasulullah saw bersabda:

عَلَيْكُمْ بِالشِّفَاءِ مِنَ الْعَسَلِ وَالْقُرْآنِ

Terjemahnya:

”Gunakanlah dua obat penyembuh; madu dan al-Qur’an. Allah berfirman, bahwa dalam kehidupan lebah, binatang yang lemah lembut itu, betapa Allah telah mengilhamkan kepadanya cara membangun sarangnya, mencari makanannya kemudian menghasilkan madu yang sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia, terdapat tanda kebesaran Allah penciptanya dan pencipta seru kalian alam” (Bahreisy dan Bahreisy, 2003: 575).

Menurut (Shihab, M. Quraish, 2002) dalam tafsir Al-Misbah menjelaskan bahwa Allah swt telah menciptakan serangga berbulu dan bersayap empat yang disebut dengan lebah dan dianugrahi dengan naluri. Lebah diperintahkan untuk menghisap berbagai macam sari kembang yang akan membentuk buah. Lebah

diberikan naluri untuk berpindah dari kembang yang satu ke kembang yang lainnya dan dari tanaman yang satu ke tanaman yang lainnya. Dengan naluri tersebut, lebah mudah melakukan kegiatan-kegiatan serta memproduksi hal-hal yang mengagumkan dan membuat sendiri sarangnya. Sari kembang yang dihisap ke dalam perut lebah mengandung unsur cairan zat semacam zat gula. Zat tersebut menjadi bertambah manis akibat pencampuran dengan zat-zat kimiawi yang melekat pada lebah. Hasil sari yang dihisap akan diproduksi di dalam perutnya sehingga menghasilkan madu kemudian madu ditampung dalam sarangnya. Sarang lebah berbentuk ruang segi enam dan dibuat oleh lebah di pepohonan, gua, gunung-gunung atau bukit dan tempat tertinggi lainnya agar terhindar dari segala sesuatu yang dapat mengganggu kualitas madu. Pergantian musim yang terjadi dan aneka kembang yang dihisap oleh lebah akan menghasilkan berbagai jenis madu. Madu yang dikeluarkan tersebut mengandung obat penyembuhan bagi manusia.

Ayat dan hadits tersebut menjelaskan tentang nikmat Allah swt yang diberikan kepada manusia melalui lebah. Lebah adalah makhluk ciptaan Allah yang banyak memberi manfaat dan kenikmatan kepada manusia. Lebah diciptakan untuk memproduksi madu bukan hanya untuk dirinya sendiri melainkan juga untuk manusia yang menandakan bahwa lebah mengabdikan diri untuk melayani manusia. Hal ini membuat manusia harus berfikir mengenai kekuasaan dan kebijaksanaan Allah swt sehingga memanfaatkan nikmat-Nya dengan tepat dan manusia seharusnya sadar bahwa Allah swt maha besar. Allah yang berkuasa di langit dan di bumi, Dia lah yang menciptakan alam semesta, Dia yang memberikan rezeki dan Dia pula yang memeliharanya dengan segala aturan/syari'at yang dibuat-Nya. Maka sudah seharusnya manusia berfikir, merenung dan menyatakan bahwa dirinya adalah hamba Allah yang harus tunduk dan patuh kepada aturan/syariat Allah swt dan bukan

aturan selain-Nya. Sesungguhnya Allah swt memerintahkan kepada lebah untuk menghisap berbagai sari kembang dari tanaman kemudian diproduksi dalam perutnya sehingga menghasilkan berbagai jenis madu. Madu memiliki keistimewaan karena mengandung senyawa yang berkhasiat bagi kesehatan tubuh manusia ketika dikonsumsi secara langsung ataupun dicampur dengan makanan maupun minuman. Ilmu pengetahuan modern telah membuktikan bahwa madu memiliki nilai pengobatan yang luar biasa seperti penetral radikal bebas.

Pengukuran aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas dapat dilakukan dengan bermacam-macam metode, seperti *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH), *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC), *Cupric Ion Reducing Antioxidant* (CUPRAC) dan *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP) (Putri, 2014: 11). Metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan madu dan sarang lebah pada penelitian ini adalah metode penangkapan radikal DPPH. Metode ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan seperti aktivitas penangkap radikal bebas yang tinggi dalam pelarut organik, seperti metanol atau etanol pada suhu kamar, metodenya yang sederhana, mudah, menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dalam waktu yang singkat dan hanya membutuhkan spektrofotometer UV-Vis (Salamah dan Widyasari, 2015: 26).

Menurut penelitian yang dilakukan Sumarlin, dkk. (2014) tentang aktivitas antikanker dan antioksidan madu di pasaran lokal Indonesia dengan menggunakan pelarut etanol 70%, menunjukkan bahwa sampel ekstrak madu yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi berasal dari sampel madu Papua dengan nilai IC_{50} sebesar 5453,75 ppm sedangkan aktivitas antioksidan terendah berasal dari sampel madu Jawa Tengah 1 dengan nilai IC_{50} sebesar 745750 ppm. Komponen dalam madu bertanggung jawab atas efek antioksidan yang terutama adalah flavonoid, asam

fenolat, katalase, peroksidase dan karetenoid. Jumlah komponen ini sangat bervariasi sesuai dengan asal bunga dan geografis madu, pengolahan, penanganan dan penyimpanan madu. Menurut Ratnayani, dkk. (2012) menyatakan bahwa tiap jenis madu memiliki efek antiradikal bebas yang berbeda-beda dimana jumlah dan kandungan antioksidannya sangat tergantung dari sumber nektarnya.

Berdasarkan penelitian Thamrin, dkk. (2016) menguji aktivitas antiosidan ekstrak etanol, fraksi etanol dan fraksi etil asetat propolis lebah *Trigona incisa* dengan metode DPPH, diperoleh hasil bahwa fraksi etil asetat memiliki potensi antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 91,42 ppm sedangkan fraksi etanol memiliki nilai IC_{50} sebesar 109,44 ppm. Nilai IC_{50} tersebut menunjukkan bahwa propolis termasuk ke dalam antioksidan kuat, dimana semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Pelarut tersebut diharapkan mampu menarik senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam madu dan sarang lebah, baik yang bersifat polar maupun yang bersifat semi polar. Penggunaan pelarut ini mengacu pada penelitian Chayati dan Miladiyah (2014) yang menggunakan pelarut metanol untuk menarik komponen fenolat yang terdapat dalam madu kopi, madu sawit, madu randu dan madu rambutan. Berdasarkan uraian tersebut serta minimnya penelitian mengenai sarang lebah dan madu hutan yang berasal dari Luwu Utara, sehingga mendorong peneliti untuk mengetahui lebih jauh tentang efek antioksidan dari sarang lebah dan madu hutan yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak sarang lebah dan madu hutan.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari Luwu Utara?
2. Berapa nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) dari ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari Luwu Utara dengan metode DPPH?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari Luwu Utara.
2. Untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) dari ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari Luwu Utara dengan metode DPPH.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dapat menambah wawasan, pengetahuan dan keterampilan yang sesuai dengan bidang ilmu yang ditekuni oleh peneliti serta dapat menjadi acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan dari ekstrak sarang lebah dan madu hutan.
2. Untuk memberikan informasi kepada masyarakat mengenai kandungan dari ekstrak sarang lebah dan madu hutan yang bermanfaat sebagai antioksidan, sehingga dapat dijadikan landasan bagi masyarakat dalam mengaplikasikan madu sebagai obat herbal dalam menangkal radikal bebas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Lebah Madu Hutan

Lebah hutan atau lebah liar biasa disebut *Apis dorsata*. Masyarakat sering menyebut *Apis dorsata* dengan nama tawon gung. Lebah ini sulit untuk ditenakkan karena sifatnya yang ganas dan sengatannya juga cukup berbahaya bagi manusia. Jenis lebah ini banyak terdapat di hutan belantara yang jarang ditempuh oleh manusia. Lebah *Apis dorsata* termasuk dalam subgenus *Megapis* dengan koloni yang besar dan memiliki ukuran tubuh yang lebih besar (panjang tubuh >15 mm) dibandingkan lebah madu lainnya. Sebagai lebah sosial, dalam koloni *Apis dorsata* terdapat pembagian kasta, yaitu kasta ratu (lebah betina, satu individu) yang dapat bertelur hingga 50.000 telur, kasta pekerja (lebah betina, ribuan individu), kasta jantan (ratusan individu), dan beberapa sel calon ratu. Lebah *Apis dorsata* mempunyai panjang sayap depan mencapai 14 mm, panjang tungkai mencapai 11,5 mm dan panjang probosis mencapai 6,5 mm. Berbeda dengan lebah sosial lainnya, *Apis dorsata* mampu melakukan pencarian pakan mulai pagi hingga malam hari karena mata tunggalnya berkembang baik (Nagir, 2016: 4-5).

Jenis lebah ini juga ada yang menamakannya lebah raksasa, karena sarangnya sangat besar dan penghuninya mencapai jutaan ekor lebah. Garis tengah dari sarang lebah *Apis dorsata* kira-kira 1,5-2 meter. Produksi madu dari lebah ini pada setiap kali panen sekitar 50-60 kilogram (Hamzah, 2011: 11). Bentuk sarang dari jenis lebah ini tidak seperti sarang lebah pada umumnya yang berupa sisiran, tetapi bentuknya menjadi satu kesatuan. Sarang *Apis dorsata* dapat ditemukan pada ketinggian lebih dari 10 m di atas permukaan tanah. Umumnya terdapat pada tempat

yang terbuka dan menggantung di ranting atau dahan semak-semak maupun pohon yang kecil serta terlindung oleh dedaunan. Ketinggian sarang dari atas tanah hanya berkisar 5 m (Nagir, 2016: 4). Produk yang dapat dihasilkan oleh lebah madu adalah madu, propolis, polen dan sel telur.

1. Madu Hutan

Madu hutan adalah madu yang dipanen langsung dari pohon-pohon di hutan tanpa proses penangkaran lebah. Madu hutan dihasilkan oleh lebah *Apis dorsata*, yaitu jenis lebah yang belum dapat dibudidayakan karena sifatnya yang agresif dan liar. Produksi lebah madu hutan memiliki kelebihan dibandingkan dengan lebah madu lainnya diantaranya yaitu hasil dari nektar yang dikumpulkan lebah berasa manis dan aromanya lebih tajam dan menyengat. Selain itu, lebah hanya mengambil makanan langsung dari alam sehingga hasil madunya tidak tercampur racun dari pestisida (Muslim, 2014: 74). Madu hutan memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi karena mengandung vitamin, beta karoten, flavanoid, asam fenolat, polifenol, asam urat dan asam nikotinat (Soleha, 2015: 7-14).

Madu hutan disebut juga dengan madu multiflora, karena berasal dari bermacam-macam bunga tanaman. Umumnya madu hutan berwarna coklat kehitaman. Hal ini terjadi karena madu hutan mengandung mineral, enzim dan berbagai zat bermanfaat lainnya yang lebih lengkap dibandingkan dengan jenis madu lainnya yang memiliki warna lebih terang. Madu hutan mengandung gas yang cukup tinggi dan mengandung glukosa serta fruktosa dalam jumlah yang cukup tinggi. Pakan lebah hutan bersumber dari bermacam-macam bunga kayu hutan yang mempengaruhi rasa, warna dan aroma dari madu hutan tersebut (Muslim, 2014:71).

2. Polen

Lebah mengumpulkan polen dari benang sari bunga. Polen menempel pada bulu-bulu lebah pada saat lebah mengambil nektar. Lebah menghilangkan polen dari bulu-bulunya dengan menggunakan sisir pada kakinya dan menambahkan ludah untuk membantu terbentuknya bola-bola polen yang kemudian dimasukkan ke kantong polen pada kaki bagian belakang dan dibawa pulang ke sarang. Lebah penjaga sarang akan menerima polen tersebut, kemudian mengolah polen dengan sedikit madu dan ludahnya. Lebah kemudian menyimpannya pada kantong polen di dalam sarang. Polen berbentuk butiran berwarna dan berukuran 1-3 mm. Warna polen tergantung dari jenis tumbuhan, yaitu kuning terang, oranye, coklat tua, biru terang, ungu hitam dan hijau (Salatnaya, 2012: 13).

Polen atau tepung sari bunga adalah alat reproduksi jantan pada tumbuhan. Polen berfungsi sebagai bahan pembentuk, pertumbuhan dan penggantian sel yang rusak pada lebah. Jika berlebihan, polen disimpan dalam sarang dan digunakan saat polen langka di lapangan. Selain air dan karbohidrat, polen sangat penting karena digunakan sebagai sumber gizi utama oleh lebah madu. Secara garis besar, polen digunakan sebagai sumber protein dan karbohidrat bagi lebah. Untuk tujuan penyerbukan polen dibutuhkan dari tumbuhan tertentu dan dijadikan sebagai sumber protein untuk makanan larva (Banowu, 2016: 18-19).

3. Propolis

Propolis merupakan resin lengket yang dikumpulkan oleh lebah pekerja dari kuncup, kulit kayu dan dari bagian tanaman lainnya. Lebah madu membuat propolis dengan mengumpulkan getah damar dari tanaman yang dicampur dengan lilin pada sarangnya. Lebah madu memerlukan propolis karena lebah madu rentan terhadap infeksi bakteri dan virus. Selain itu, propolis digunakan untuk mengisi celah dan

retakan serta menghaluskan permukaan yang kasar pada sarang lebah madu. Propolis dikumpulkan lebah pekerja di lapangan untuk digunakan sebagai penutup sarang, mengurangi ukuran pintu masuk sarang, menempel lubang-lubang kecil dan digunakan untuk perlindungan terhadap musuh, memperkuat perlekatan sarang, melindungi keluarga lebah terhadap bakteri dan virus. Propolis bersifat sangat kompleks dan kaya akan senyawa terpena, asam benzoat, asam kafeat, asam sinamat dan asam fenolat. Propolis juga mengandung flavonoid yang sangat tinggi. Propolis berwarna kuning sampai coklat kemerahan dan memiliki bau aromatik (Banowu, 2016: 17-18).

Sifat fisik dan kimia propolis tergantung pada sumber tanamannya. Pada suhu 20-45°C propolis menjadi sangat lengket, lentur dan tidak keras. Di atas suhu tersebut, propolis menjadi makin lengket dan seperti permen karet. Sedangkan pada suhu rendah, propolis menjadi keras dan rapuh. Pada suhu 60-70°C propolis mulai mencair. Warna, aroma dan kandungan propolis bervariasi tergantung dari asal tumbuhan. Propolis berwarna kuning sampai coklat tua, bahkan ada yang transparan. Kebanyakan propolis berwarna coklat terang sampai gelap, tetapi ada pula yang berwarna hijau, merah, hitam, kuning, maupun putih. Hal ini dipengaruhi oleh kandungan flavonoidnya (Salatnaya, 2012: 15).

4. Royal Jelly

Royal jelly atau sari madu adalah cairan putih seperti susu, rasanya agak masam, baunya agak tajam dan agak pahit. *Royal jelly* dihasilkan oleh lebah pekerja muda yang berumur 4-7 hari. Cairan ini dihasilkan oleh kelenjar hipofaring dengan bantuan kelenjar ludah yang terletak di bagian kepala. Bahan baku dari *royal jelly* adalah tepung sari tanaman (Hamzah, 2011: 16). Larva lebah pekerja, lebah jantan dan calon ratu memakan produk ini untuk perkembangan lebah. Lebah pekerja hanya

mengonsumsi *royal jelly* pada dua hari pertama saat membentuk larva, selanjutnya mendapatkan cairan yang lebih encer. Lebah ratu mengonsumsi *royal jelly* sepanjang hidupnya. Inilah yang menyebabkan lebah ratu menjadi penghasil telur sejati dengan ukuran badan yang lebih besar. *Royal jelly* biasa digunakan untuk meremajakan kulit, meningkatkan daya tahan tubuh, vitalitas dan dapat mempertahankan elastisitas kulit hingga tetap bersinar dan awet muda (Salatnaya, 2012: 14).

B. Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder merupakan molekul kecil yang dihasilkan oleh suatu organisme tetapi tidak secara langsung dibutuhkan dalam mempertahankan hidupnya, tidak seperti protein, asam nukleat dan polisakarida yang merupakan komponen dasar untuk proses kehidupan. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama penyakit maupun lingkungannya. Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder telah banyak digunakan sebagai zat warna, racun, aroma makanan dan obat-obatan (Putri, 2014: 16).

Senyawa metabolit sekunder juga termasuk dalam senyawa bioaktif karena beberapa senyawa metabolit sekunder mempunyai efek fisiologis yang berpengaruh positif dan memiliki banyak hasiat bagi kesehatan tubuh manusia (Frindryani, 2016: 10). Penjelasan tersebut sesuai dengan firman Allah swt dalam QS Yunus/10: 57, yang menjelaskan bahwa semua penyakit yang telah menimpa manusia maka Allah akan menurunkan obatnya, obat tersebut dapat diproduksi dari bahan alam yang mengandung berbagai jenis senyawa metabolit sekunder.

يَا أَيُّهَا النَّاسُ قَدْ جَاءَكُمْ مَوْعِظَةٌ مِنْ رَبِّكُمْ وَشِفَاءٌ لِمَا فِي الصُّدُورِ وَهُدًى وَرَحْمَةٌ
لِّلْمُؤْمِنِينَ (٥٧)

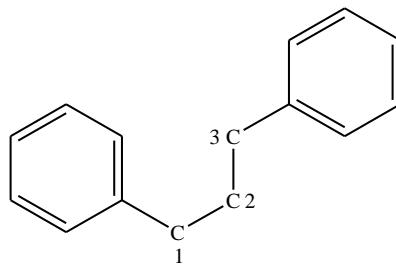
Terjemahnya:

“Wahai manusia! Sungguh, telah datang kepadamu pelajaran (Al-Qur’an) dari Tuhanmu, penyembuh bagi penyakit yang ada dalam dada, dan petunjuk serta rahmat bagi orang yang beriman” (Departemen Agama RI, 2007: 215).

Menurut (Shihab, M. Quraish, 2002) dalam tafsir Al-misbah, Allah swt menegaskan bahwa Al-Qur’an adalah obat bagi apa yang terdapat di dalam dada. Dada diartikan sebagai hati yang menunjukkan bahwa al-Qur’an berfungsi menyembuhkan penyakit rohani seperti ragu, dengki, takabur dan semacamnya, karena hati mampu melahirkan ketenangan dan kegelisahan serta menampung sifat baik dan terpuji. Selain itu dijelaskan bahwa al-Qur’an juga dapat menyembuhkan penyakit-penyakit jasmani. Ayat tersebut menegaskan bahwa terdapat empat fungsi Al-Qur’an yaitu sebagai pengajaran, obat, petunjuk serta rahmat. Ulama telah memberikan ilustrasi bahwa seseorang yang sakit adalah seseorang dengan kondisi yang tidak stabil dan lemah tubuhnya. Ia menanti kedatangan seorang dokter yang dapat memberinya obat untuk kesembuhannya. Dokter perlu memberinya peringatan kepada pasien menyangkut sebab-sebab penyakitnya dan dampak dari penyakit tersebut. Kemudian memberinya obat untuk kesembuhannya dan memberinya petunjuk serta saran tentang cara hidup sehat agar kesehatannya dapat terpelihara sehingga penyakit yang dideritanya tidak kambuh lagi. Jika pasien memenuhi peringatan dari dokter niscaya ia akan sehat sejahtera dan hidup bahagia serta terhindar dari segala penyakit. Hal tersebut menunjukkan rahmat yang sungguh besar

Ayat tersebut menjelaskan bahwa sesungguhnya Allah swt tidak akan menurunkan sebuah penyakit jika tidak menurunkan pula obatnya, tetapi obat tersebut ada yang sudah ditemukan dan ada pula yang belum ditemukan manusia. Oleh karena itu, Allah swt telah menjelaskan seseorang harus bersabar untuk selalu berobat dan terus berusaha untuk mencari obat ketika sakit sedang menyimpannya. Namun terkadang seseorang terjatuh pada kesalahan dalam mencari obat. Hal ini disebabkan karena lemahnya kesabaran dan kurangnya ilmu pengetahuan, baik ilmu mengenai agama maupun ilmu tentang pengobatan. Salah satu sumber yang dapat dijadikan sebagai obat dalam menyembuhkan penyakit yaitu dengan menggunakan bahan alam yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan asam fenolik.

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Amalia, 2015: 10). Kerangka dasar flavonoid tersusun dari 15 atom karbon. Struktur $C_6-C_3-C_6$ dari 15C ini membentuk model konfigurasi yang menghasilkan tiga macam model struktur dasar yaitu struktur 1,3-diarilpropana yang diistilahkan sebagai flavonoid, struktur 1,2-diarilpropana yang diistilahkan isoflavonoid dan struktur 1,1-diarilpropana yang diistilahkan neoflavonoid (Ilyas, 2013: 73).



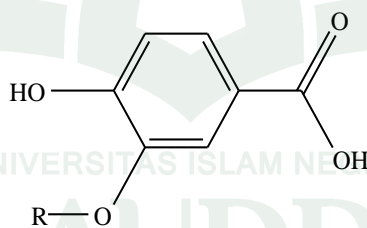
Gambar 2.1 Struktur dasar flavonoid

(Sumber: Ilyas, 2013: 73)

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil atau gula, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, etil asetat, dimetilsulfoksida, dimetilformamida dan air. Gugus gula yang terikat pada beberapa jenis struktur flavonoid (diistilahkan glikosida flavonoid) cenderung menyebabkan flavonoid tersebut lebih mudah larut dalam air. Dengan demikian, campuran pelarut-pelarut polar dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk menarik komponen-komponen glikosida flavonoid. Sebaliknya, aglikon-aglikon flavonoid yang kurang polar seperti isoflavan, flavonon dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Ilyas, 2013: 74-75).

Flavonoid memiliki efek biologi yang bervariasi seperti aktivitas immunomodulasi, antioksidan, efek hipolipidemi, hipoglikemi dan melenturkan pembuluh darah. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya, berada dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Amalia, 2015: 10). Selain itu flavonoid juga bermanfaat untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektifitas vitamin C), anti inflamasi, mencegah keropos tulang, mencegah kanker dan sebagai antibiotik (Putri, 2014: 17).

Senyawa fenolik diistilahkan sebagai kelompok senyawa bahan alam yang memiliki ciri utama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih substituen hidroksil. Berdasarkan strukturnya, senyawa fenolik bersifat polar sehingga cenderung mudah larut dalam air. Kelompok utama dari golongan senyawa ini antara lain fenol sederhana, fenil propanoid dan poliketida serta flavonoid dan stilben. Senyawa fenolik sudah banyak diisolasi dari tumbuhan obat dan bahan alam lain yang bermanfaat. Seperti kacang-kacangan, buah-buahan, minyak zaitun, teh dan tumbuhan beraroma seperti mint (Ilyas, 2013: 63-64). Senyawa fenolik dikelompokkan menjadi tiga, yaitu fenol sederhana yang memiliki kerangka C6 seperti (vanillin, gingerol, shogaol, gualakol dan eugenol) dan asam fenol (p-kresol, 3-etilfenol, hidrokuinon, asam galat dan siringit). Turunan asam hidroksisinamat (p-kumarin, kafein dan ferulin) serta flavonoid (antosianin, flavonon, flavanon, flavonol dan tannin) (Putri, 2014: 20-21).



Gambar 2.2 Struktur asam fenolat

(Sumber: Tsao, 2010: 1232)

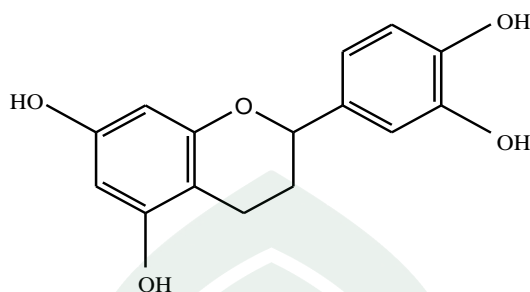
Senyawa fenol dan asam fenolat dapat diidentifikasi bersama-sama. Hidrolisis jaringan tumbuhan dalam suasana asam akan membebaskan sejumlah asam fenolat yang larut dalam eter, beberapa diantaranya umum penyebarannya. Senyawa jenis asam fenolat memiliki hubungan dengan lignin yang terikat sebagai ester atau terdapat pada daun di dalam fraksi yang tidak larut dalam etanol, atau dapat pula terdapat di dalam fraksi yang larut dalam etanol yaitu sebagai glikosida sederhana.

Asam para-hidroksibenzoat, asam protokatekuat, asam vanilat dan asam siringat umumnya terdapat pada tumbuhan angiospermae. Asam gentisat juga tersebar luas seperti asam salisilat dan asam protokatekuat penyebarannya lebih terbatas. Asam fenolat yang lain adalah asam galat yang telah dilaporkan sebagai penghambat alami pada pembuangan, terdapat pada daun kalanchoe. Asam galat terdapat dalam banyak tumbuhan berkayu, terikat sebagai galotanin, tetapi merupakan senyawa yang sangat reaktif. Senyawa ini lebih banyak diperoleh dalam ekstrak tumbuhan yang sudah dihidrolisis dalam suasana alam. Senyawa ini terdapat sebagai asam asam elagat, yaitu bentuk dimer hasil kondensasi, terbentuk dari elagitanin (Ilyas, 2013: 66).

Tanin merupakan zat organik yang sangat kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik. Tanin terdiri dari sekelompok zat-zat kompleks yang terdapat secara meluas dalam dunia tumbuh-tumbuhan, antara lain terdapat pada bagian kulit kayu, batang, daun dan buah-buahan (Latifah, 2015: 17). Tanin memiliki sifat umum yaitu memiliki gugus fenol dan dapat larut dalam air dan pelarut organik, tanin dengan garam besi memberikan reaksi warna hijau dan biru kehitaman yang digunakan untuk menguji klasifikasi tanin. Selain itu, tanin juga memiliki bau yang khas dan mempunyai rasa sepat (astrigen). Tanin berkhasiat sebagai antidiare, antibakteri dan antioksidan (Mabruroh, 2015: 12-14).

Tanin dibagi menjadi dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi memiliki berat molekul 1000-3000 sedangkan tanin terhidrolisis memiliki berat molekul 1000-1500 pada galotanin dan 1000-3000 pada elagitanin. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Ikatan karbon menghubungkan satu satuan flavolan dengan satuan berikutnya melalui ikatan 4-8 atau 6-8. Kebanyakan flavolan

mempunyai 2 sampai 20 satuan flavon. Tanin terkondensasi merupakan polimer flavonoid dan didasarkan pada sistem cincin heterosiklik yang diperoleh dari fenilalanin dan biosintesis poliketida (Mabruroh, 2015: 15).



Gambar 2.3 Struktur senyawa tanin

(Sumber: Mabruroh, 2015: 13)

Tanin terhidrolisis merupakan turunan dari asam galat dan senyawa ini mengandung ikatan ester antara suatu monosakarida terutama gugus hidroksilnya. Tanin terhidrolisis mudah terhidrolisis dengan penambahan asam lemah atau basa lemah. Tanin terhidrolisis biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam air terutama dalam air panas membentuk larutan koloid. Semakin murni tanin maka semakin kurang kelarutannya dalam air dan semakin mudah diperoleh dalam bentuk kristal, tanin terhidrolisis larut pula dalam pelarut organik polar tetapi tidak larut dalam pelarut organik nonpolar seperti benzena (Mabruroh, 2015: 16-17).

C. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan komponen dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya (Putri, 2015: 10). Prinsip metode ekstraksi ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Diantara

berbagai jenis metode pemisahan, ekstraksi pelarut merupakan metode yang paling baik dan populer. Alasan utamanya karena metode ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro maupun mikro. Pemisahannya tidak memerlukan alat khusus atau canggih, namun membutuhkan waktu yang relatif lama. Salah satu jenis ekstraksi yang paling sederhana adalah ekstraksi dengan cara maserasi (Yazid, 2005: 180).

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat yang berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar dan merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah waktu maserasi selesai, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk ke dalam cairan telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang maka akan terjadi keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat di dalam cairan (Istiqomah, 2013: 12).

Proses perendaman ini dilakukan dengan bahan tanaman yang belum diolah atau telah diserbukkan ditempatkan dalam wadah bersama dengan pelarut. Bahkan tanaman harus tetap kontak dengan pelarut selama beberapa jam atau bahkan berhari-hari, selama proses ini bahkan terlarut akan dipindahkan dari sampel padat ke bagian pelarutnya. Umumnya diperlukan pengadukan untuk meningkatkan laju perpindahan zat terlarut dengan meningkatkan turbulensi. Penyebaran partikel dalam cairan

pelarut dengan adanya agitasi akan memfasilitasi kontak antara padatan dengan pelarut, mempercepat proses ekstraksi dengan membantu difusi komponen terekstraksi serta menghindari kejenuhan pelarut. Namun demikian, harus dihindari agitasi yang berlebihan karena dapat mengakibatkan desintegrasi partikel padatan (Haeria, 2014: 18).

D. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul elektron yang tidak berpasangan sehingga mengakibatkan sifatnya sangat tidak stabil. Hal ini karena radikal bebas mempunyai satu elektron atau lebih yang tidak berpasangan pada kulit luar. Elektron pada radikal bebas sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat atau *asam deoksiribonukleat* (DNA) sehingga terjadi perubahan struktur dan fungsi sel. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh, maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru. Reaksi ini dapat berakhir jika ada molekul yang memberikan elektron yang dibutuhkan oleh radikal bebas tersebut atau dua buah gugus radikal bebas membentuk ikatan non-radikal (Syaifuddin, 2015: 16).

Radikal bebas akan menyerang biomakromolekul penting dalam tubuh seperti komponen penyusun sel. Asam lemak tak jenuh adalah yang paling rentan, radikal bebas akan merusak lemak tak jenuh ganda pada membran sel sehingga dinding sel akan menjadi rapuh, merusak pembuluh darah dan menimbulkan aterosklerosis. Radikal bebas juga merusak DNA sehingga dapat mengacaukan sistem informasi genetika dan membentuk sel kanker. Jaringan lipid juga akan dirusak juga oleh senyawa radikal bebas sehingga terbentuk peroksida dan menimbulkan penyakit degeneratif (Ulfah, 2016: 12). Senyawa oksigen reaktif ini juga mampu merusak

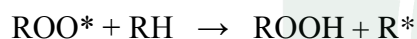
bagian dalam pembuluh darah sehingga meningkatkan pengendapan kolesterol dan menimbulkan arterosklerosis, merusak DNA sehingga mengacaukan sistem info genetika, dan berlanjut pada pembentukan sel kanker (Syarifuddin, 2015: 16-17).

Menurut Grafianita (2011: 17-18), mekanisme reaksi pembentukan radikal bebas terbagi menjadi 3 tahap yaitu sebagai berikut:

- a. Tahap inisiasi (awal pembentukan radikal bebas). Tahap pertama akan terbentuk radikal lipid dari molekul lipid dan terjadi pengurangan atom hidrogen oleh radikal reaktif misalnya radikal hidrogen.



- b. Tahap propagasi (pemanjangan rantai). Tahap kedua radikal lipid diubah menjadi radikal lipid yang berbeda dan mengakibatkan pengurangan atom hidrogen dari molekul lipid atau penambahan atom oksigen pada radikal alkil.



- c. Tahap terminasi (senyawa radikal bereaksi dengan radikal lain). Tahap ketiga radikal bebas bergabung untuk membentuk molekul dengan membentuk pasangan antar radikal.



E. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas, sehingga reaksi radikal bebas tersebut dapat terhambat. Antioksidan merupakan senyawa pemberi

elektron atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok umur. Fungsi antioksidan adalah menetralisasi radikal bebas, menghilangkan, membersihkan dan menahan pembentukan radikal bebas dalam tubuh. Senyawa antioksidan memegang peranan penting dalam pertahanan tubuh terhadap pengaruh buruk yang disebabkan radikal bebas sehingga tubuh terlindungi dari penyakit degeneratif akibat penuaan, seperti kardiovaskular, kanker, aterosklerosis dan osteoporosis (Putri, 2014: 8-9).

Tubuh manusia mempunyai sistem antioksidan yang diproduksi di dalam tubuh untuk menangkal atau meredam radikal bebas, seperti enzim superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase. Bila jumlah senyawa radikal bebas melebihi jumlah antioksidan alami dalam tubuh maka radikal bebas akan menyerang komponen lipid, protein dan DNA. Sehingga tubuh membutuhkan asupan antioksidan yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan dapat berupa enzim, vitamin (misalnya vitamin E, C, A dan beta karoten) dan senyawa non enzim (misalnya flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin) (Ulfah, 2016: 13-14).

F. Metode DPPH

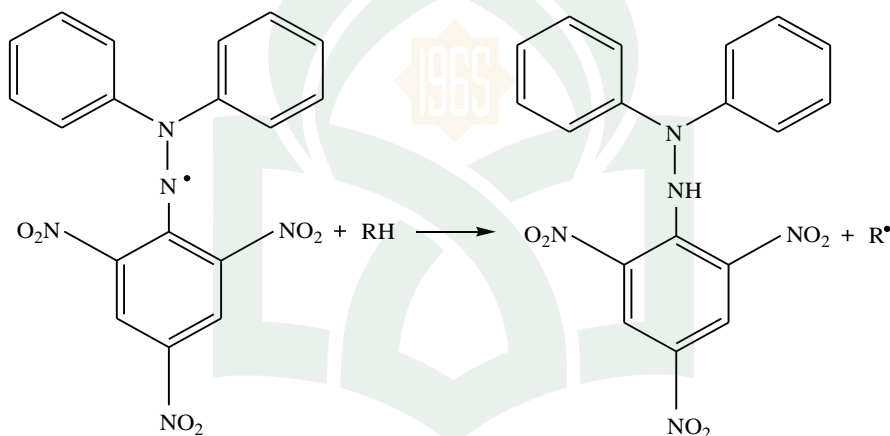
Metode DPPH merupakan metode yang sederhana dan hanya membutuhkan spektrofotometer UV-Vis. Adanya hidrogen atau elektron donor (antioksidan penangkap radikal) membuat intensitas absorpsi menurun dan larutan radikal

kehilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang berhasil ditangkap. Metode DPPH direkomendasikan sebagai metode yang mudah dan akurat untuk mengukur aktivitas antioksidan suatu ekstrak. Hasil uji lebih reproduibel bila dibandingkan metode penangkapan radikal bebas yang lain seperti ABTS. Kinetika reaksi antara fenol-ABTS ditemukan berbeda dengan fenol-DPPH pada rentang konsentrasi yang mirip. Radikal DPPH banyak digunakan saat ini karena stabilitasnya yang tinggi, bahan uji yang diperlukan kecil dan dapat diaplikasikan untuk senyawa lipofilik maupun hidrofilik. Metode penangkapan radikal DPPH memiliki kelebihan antara lain pereaksi tidak selektif sehingga senyawa dengan gugus fungsi dari antioksidan lemahpun dapat diidentifikasi dan waktu stabil setelah terjadi reaksi cukup memadai untuk dianalisis. Metode DPPH dapat digunakan pada solven organik berair maupun nonpolar, maka antioksidan hidrofilik maupun lipofilik dapat diuji aktifitasnya (Irianti, dkk., 2015: 141).

Radikal bebas DPPH bersifat peka terhadap cahaya, oksigen dan pH, tetapi bersifat stabil dalam bentuk radikal sehingga memungkinkan untuk dilakukan pengukuran antioksidan. Radikal bebas DPPH dapat menangkap atom hidrogen dari komponen aktif ekstrak yang dicampurkan kemudian bereaksi menjadi bentuk tereduksinya. Mekanisme penangkapan radikal DPPH, yaitu melalui donor atom H dari senyawa antioksidan yang menyebabkan peredaman warna radikal pikrilhidrazil yang berwarna ungu menjadi pikrilhidrazil berwarna kuning yang nonradikal (Putri, 2014: 12-13).

Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron yang tidak berpasangan memberikan warna ungu dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm, setelah warna berubah menjadi kuning maka elektron tersebut telah berpasangan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan

jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen, sehingga pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Ulfah, 2016: 16). Prinsip uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH dengan pemantauan absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH dengan nitrogen organik terpusat adalah radikal bebas stabil dengan warna ungu gelap yang ketika direduksi menjadi bentuk nonradikal oleh antioksidan menjadi warna kuning (Putri, 2015: 20).



Gambar 2.4 Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan

(Sumber: Frindryani, 2016: 26)

Radikal bebas DPPH dapat menangkap atom hidrogen dari komponen aktif ekstrak yang dicampurkan kemudian bereaksi menjadi bentuk tereduksinya. Berdasarkan reaksi pada gambar 2.3, senyawa antioksidan (RH) melepas atom hidrogen menjadi radikal senyawa antioksidan (R^{\bullet}). DPPH merupakan radikal bebas yang jika direaksikan dengan senyawa antioksidan akan menjadi DPPH bentuk tereduksi (DPPH-H). Mekanisme penangkapan radikal DPPH, yaitu melalui donor atom H dari senyawa antioksidan yang menyebabkan peredaman warna radikal

pikrilhidrazil yang berwarna ungu menjadi pikrilhidrazil berwarna kuning yang nonradikal (Putri, 2014: 13).

G. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis) merupakan instrumen analisis yang termasuk dalam spektroskopi absorpsi. Apabila radiasi atau cahaya dilewatkan melalui larutan berwarna maka radiasi dengan panjang gelombang tertentu akan diserap secara selektif dan radiasi lainnya akan diteruskan. Metode Spektrofotometer (UV-Vis) didasarkan atas absorban sinar tampak oleh suatu larutan berwarna. Oleh karena itu, metode ini dikenal juga sebagai metode kolorimetri, karena larutan berwarna saja yang dapat ditentukan dengan metode ini. Senyawa yang tidak berwarna dapat dibuat berwarna dengan mereaksikannya dengan pereaksi yang menghasilkan senyawa berwarna (Syaifuddin, 2015: 23-24).

Sumber cahaya yang digunakan berupa lampu tungsten akan memancarkan sinar polikromatik setelah melewati pengaturan panjang gelombang. Hanya sinar yang monokromatik yang dilewatkan ke larutan dan sinar yang melewati larutan dideteksi oleh fotodetektor. Apabila radiasi (cahaya putih) dilewatkan melalui larutan berwarna, maka radiasi dengan panjang gelombang tertentu akan diserap (absorpsi) secara selektif dan radiasi lainnya akan diteruskan (Bintang, 2010: 195). Cahaya yang dapat dilihat oleh manusia disebut cahaya tampak. Biasanya cahaya yang terlihat merupakan campuran dari cahaya yang mempunyai berbagai panjang gelombang dari 400 nm hingga 700 nm. Metode spektrofotometer memiliki kelebihan, yaitu metode spektrofotometer digunakan secara luas untuk mengidentifikasi dan menganalisis struktur materi organik (Syaifuddin, 2015: 25-26).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2017 hingga bulan Maret 2017 di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Kimia Organik Fakultas Sains dan Teknologi, Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan Laboratorium Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (*Varian*), inkubator (*Heraeus*), *vacum rotary evaporator* (*Heidolph*), kuvet, neraca analitik (*Kern*), gelas kimia 100 mL dan 50 mL, labu takar 100 mL, 50 mL dan 10 mL, pipet skala 10 mL dan 1 mL, plat tetes, bulb, wadah maserasi, wadah ekstrak, tabung reaksi, pipet tetes, batang pengaduk, rak tabung reaksi dan spatula.

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aluminium foil, asam askorbat ($C_6H_8O_6$), asam sulfat (H_2SO_4) p.a, aquades (H_2O), besi (III) klorida ($FeCl_3$) 5% dan 1%, metanol (CH_3OH), sampel sarang lebah dan madu hutan dari Luwu Utara serta serbuk DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

C. Prosedur Kerja

1. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sarang lebah dan madu yang diperoleh dari hutan di desa Patila, Kecamatan Bone-bone Kabupaten Luwu Utara. Sampel sarang lebah dibagi menjadi empat bagian yaitu kantong madu, kantong polen, propolis dan kantong telur kemudian bagian masing-masing sampel dibersihkan dan dipotong-potong sampai berukuran kecil. Kondisi lingkungan tempat pengambilan sampel sarang lebah tidak terpapar sinar matahari secara langsung karena ternaungi oleh dedaunan dari tanaman yang berada di sekitarnya.

2. Ekstraksi

a. Ekstraksi sarang lebah

Ekstraksi Sarang lebah dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Sarang lebah yang masih segar terdiri dari kantong madu, kantong polen, propolis dan kantong telur dipotong-potong kemudian masing-masing ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam wadah maserasi yang berbeda. Bagian masing-masing sarang lebah ditambahkan dengan pelarut metanol sampai semua sampel terendam. Campuran sarang lebah yang sudah didiamkan selama 24 jam disaring dengan penyaring dan corong steril untuk memisahkan filtrat dari endapan/ampas. Sisa ampas sarang lebah dimaserasi kembali dengan pelarut yang masih baru. Penggantian pelarut dilakukan sebanyak tiga kali dan filtrat hasil maserasi diuapkan pada tekanan rendah dengan suhu 60-70°C menggunakan evaporator hingga diperoleh ekstrak kental (Yuliana, dkk., 2015: 68).

b. Ekstraksi Madu Hutan

Sampel madu hutan sebanyak 150 mL dimasukkan ke dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan dengan pelarut metanol sampai semua sampel madu terendam. Madu dimaserasi selama 24 jam, selanjutnya filtrat disaring dan diuapkan pada tekanan rendah dengan suhu 60-70°C menggunakan evaporator hingga diperoleh ekstrak kental (Asih, dkk., 2012: 73).

3. Skrining Fitokimia

a. Uji Kandungan Flavonoid

Ekstrak dipipet sebanyak 3 tetes ke dalam plat tetes. Ekstrak kemudian ditambahkan dengan H_2SO_4 p.a sebanyak 1 tetes. Sampel positif mengandung flavonoid jika larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok menjadi warna kuning, merah atau coklat (Munte, dkk., 2015: 43).

b. Uji Kandungan Fenolik

Ekstrak dipipet sebanyak 3 tetes ke dalam plat tetes. Ekstrak ditambahkan dengan FeCl_3 5% sebanyak 2 tetes. Sampel positif mengandung fenolik jika terbentuk warna hijau, hitam kebiruan atau hitam yang kuat (Putri dan Hijadati, 2015: 3).

c. Uji Kandungan Tanin

Ekstrak dipipet sebanyak 3 tetes ke dalam plat tetes. Ekstrak ditambahkan dengan FeCl_3 1% sebanyak 2 tetes. Sampel positif mengandung tanin jika larutan mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Huliselan, dkk., 2015: 158).

4. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan Uji

1) Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm

Pembuatan larutan DPPH dilakukan dengan cara serbuk DPPH ditimbang sebanyak 0,01 g kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu takar hingga volume 100 mL sehingga kadarnya 100 ppm. Larutan DPPH 100 ppm diencerkan dengan cara dipipet sebanyak 20 mL ke dalam labu takar 50 mL kemudian dihipitkan dengan metanol p.a hingga diperoleh larutan DPPH 40 ppm (Parwata, dkk., 2010: 56).

2) Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat

Larutan standar asam askorbat 100 ppm dibuat dengan cara serbuk asam askorbat ditimbang sebanyak 0,01 g kemudian dilarutkan dengan metanol p.a hingga volumenya mencapai 100 mL. Larutan standar asam askorbat dengan konsentrasi 100 ppm kemudian diencerkan menjadi 4 ppm, 3 ppm, 2 ppm dan 1 ppm (Sumarlin, dkk., 2014: 138).

3) Pembuatan Larutan Ekstrak

a) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Sarang Lebah

Larutan uji ekstrak konsentrasi 8000 ppm, 6000 ppm, 4000 ppm dan 2000 ppm dibuat dengan cara masing-masing ekstrak sarang lebah yang terdiri dari ekstrak kantong madu, ekstrak kantong polen, ekstrak propolis dan ekstrak kantong telur ditimbang sebanyak 0,08 g, 0,06 g, 0,04 g dan 0,02 g kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol p.a hingga volumenya mencapai 10 mL (Sumarlin, dkk., 2014: 141).

b) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Madu Hutan

Larutan uji ekstrak konsentrasi 8000 ppm, 6000 ppm, 4000 ppm dan 2000 ppm dibuat dengan cara masing-masing ekstrak sarang lebah ditimbang sebanyak 0,08 g, 0,06 g, 0,04 g dan 0,02 g kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol p.a hingga volumenya mencapai 10 mL (Sumarlin, dkk., 2014: 141).

b. Pengukuran Serapan Larutan Uji

1) Pengukuran Serapan Larutan Blanko

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara larutan DPPH 40 ppm dipipet sebanyak 3 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan metanol p.a sebanyak 3 mL. Setelah itu dihomogenkan dan ditutup dengan aluminium foil kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Serapan larutan blanko diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm (Ulfah, 2016: 23).

2) Pengukuran Serapan Larutan Standar Asam Askorbat

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara larutan standar asam askorbat 4 ppm, 3 ppm, 2 ppm dan 1 ppm masing-masing dipipet sebanyak 3 mL. dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 3 mL larutan DPPH 40 ppm dan dihomogenkan. Setelah itu ditutup dengan aluminium foil kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm pada spektrofotometer UV-Vis. (Ulfah, 2016: 23).

3) Pengukuran Serapan Larutan Ekstrak

a) Pengukuran Serapan Larutan Ekstrak Sarang Lebah

Pengukuran serapan larutan ekstrak metanol sarang lebah dilakukan dengan cara larutan ekstrak metanol 8000 ppm, 6000 ppm, 4000 ppm dan 2000 ppm

dipipet masing-masing sebanyak 3 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 3 mL larutan DPPH 40 ppm. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm pada spektrofotometer UV-Vis (Sumarlin, dkk., 2014: 138).

b) Pengukuran Serapan Larutan Ekstrak Madu Hutan

Pengukuran serapan larutan ekstrak metanol madu hutan dilakukan dengan cara larutan ekstrak metanol 8000 ppm, 6000 ppm, 4000 ppm dan 2000 ppm dipipet masing-masing sebanyak 3 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 3 mL larutan DPPH 40 ppm. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm pada spektrofotometer UV-Vis (Sumarlin, dkk., 2014: 138).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Pengolahan Sampel

Sampel kantong madu, kantong polen, propolis, kantong telur dan madu hutan dari Luwu Utara yang telah dimaserasi dengan pelarut metanol selanjutnya dievaporasi untuk menguapkan pelarut yang terkandung dalam filtrat. Hasil ekstrak kental yang diperoleh untuk sampel sarang lebah dan madu hutan dapat dilihat pada tabel 4.1 sebagai berikut:

Tabel 4.1 Hasil Evaporasi Ekstrak Sarang Lebah dan Madu dengan Pelarut Metanol

| Sampel | Ekstrak kental | |
|---------------|----------------|------------|
| | Bobot (g) | Warna |
| Kantong madu | 18,3655 | Coklat tua |
| Kantong polen | 40,8229 | Coklat |
| Propolis | 29,2579 | Coklat tua |
| Kantong telur | 30,3481 | Coklat |
| Madu | 161,7840 | Coklat |

2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari Luwu Utara. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 4.2 sebagai berikut:

Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Sarang Lebah dan Madu dengan Pelarut Metanol

| Sampel | Uji pendahuluan | | |
|---------------|-----------------|--------------|-------|
| | Flavonoid | Asam fenolik | Tanin |
| Kantong madu | + | + | + |
| Kantong polen | + | + | + |
| Propolis | + | + | + |
| Kantong telur | + | + | + |
| Madu | + | + | - |

Keterangan:

- (+) = teridentifikasi senyawa metabolit sekunder
 (-) = tidak teridentifikasi senyawa metabolit sekunder

3. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kantong madu, ekstrak kantong polen, ekstrak kantong telur, ekstrak propolis, ekstrak madu hutan dan larutan standar asam askorbat dilakukan dengan berbagai seri konsentrasi menggunakan Metode DPPH. Pengujian aktivitas dilakukan dengan mengukur absorbansi dari setiap larutan uji menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan tiga kali pengulangan (triplo) sehingga diperoleh nilai absorbansi rata-rata yang digunakan untuk menentukan nilai aktivitas antioksidan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kantong madu yang ditunjukkan pada tabel 4.3 sebagai berikut:

Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kantong Madu

| Konsentrasi | Absorbansi | Aktivitas | IC₅₀ |
|--------------------|-------------------|----------------------|------------------------|
| (ppm) | rata-rata | Peredaman (%) | (ppm) |
| 2000 | 0,2022 | 42,3109 | 3160,57 |
| 4000 | 0,1525 | 56,4907 | |
| 6000 | 0,1233 | 64,8216 | |
| 8000 | 0,0912 | 73,9800 | |
| Blanko | 0,3505 | | |

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kantong polen yang ditunjukkan pada tabel 4.4 sebagai berikut:

Tabel 4.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kantong Polen

| Konsentrasi | Absorbansi | Aktivitas | IC₅₀ |
|--------------------|-------------------|----------------------|------------------------|
| (ppm) | rata-rata | Peredaman (%) | (ppm) |
| 2000 | 0,1417 | 34,1848 | 7291,07 |
| 4000 | 0,1259 | 41,5234 | |
| 6000 | 0,1107 | 48,5833 | |
| 8000 | 0,1061 | 50,7199 | |
| Blanko | 0,2153 | | |

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak propolis yang ditunjukkan pada tabel 4.5 sebagai berikut:

Tabel 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Propolis

| Konsentrasi | Absorbansi | Aktivitas | IC₅₀ |
|--------------------|-------------------|----------------------|------------------------|
| (ppm) | rata-rata | Peredaman (%) | (ppm) |
| 2000 | 0,2572 | 30,2224 | 5787,77 |
| 4000 | 0,1927 | 47,7211 | |
| 6000 | 0,1909 | 48,2094 | |
| 8000 | 0,1465 | 60,2550 | |
| Blanko | 0,3686 | | |

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kantong telur yang ditunjukkan pada tabel 4.6 sebagai berikut:

Tabel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kantong Telur

| Konsentrasi | Absorbansi | Aktivitas | IC₅₀ |
|--------------------|-------------------|----------------------|------------------------|
| (ppm) | rata-rata | Peredaman (%) | (ppm) |
| 2000 | 0,2549 | 26,8369 | 5486,15 |
| 4000 | 0,1934 | 44,4890 | |
| 6000 | 0,1893 | 45,6659 | |
| 8000 | 0,1064 | 69,4603 | |
| Blanko | 0,3484 | | |

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak madu yang ditunjukkan pada tabel 4.7 sebagai berikut:

Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Madu

| Konsentrasi | Absorbansi | Aktivitas | IC₅₀ |
|--------------------|-------------------|----------------------|------------------------|
| (ppm) | rata-rata | Peredaman (%) | (ppm) |
| 2000 | 0,3133 | 15,3243 | 18907,5 |
| 4000 | 0,2945 | 20,4054 | |
| 6000 | 0,2720 | 26,4864 | |
| 8000 | 0,2713 | 26,6756 | |
| Blanko | 0,3700 | | |

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan larutan standar asam askorbat yang ditunjukkan pada tabel 4.7 sebagai berikut:

Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat

| Konsentrasi | Absorbansi | Aktivitas | IC₅₀ |
|--------------------|-------------------|----------------------|------------------------|
| (ppm) | rata-rata | Peredaman (%) | (ppm) |
| 1 | 0,2377 | 32,8910 | 2,26 |
| 2 | 0,1998 | 43,5911 | |
| 3 | 0,1531 | 56,7758 | |
| 4 | 0,0642 | 81,8746 | |
| Blanko | 0,3542 | | |

B. Pembahasan

1. Ekstraksi Sarang Lebah dan Madu

Proses ekstraksi sampel sarang lebah serta sampel madu dilakukan dengan metode maserasi. Metode ini dipilih karena proses pengerjaannya yang mudah dan peralatan yang digunakan cukup sederhana, selain itu ekstraksi cara dingin juga dapat mencegah terurainya gula dan metabolit sekunder yang tidak tahan panas yang terdapat dalam sampel. Hal ini sesuai dengan penelitian Asih (2012) yang menyatakan bahwa di dalam madu banyak mengandung gula serta metabolit sekunder yang dapat rusak karena adanya pemanasan, hal ini terbukti saat dilakukan hidrolisis gula dengan menggunakan cara panas maka sampel madu menjadi berwarna coklat gelap yang menandakan bahwa sampel menjadi rusak.

Prinsip maserasi adalah pelarut yang digunakan dalam proses maserasi akan masuk ke dalam sel sampel melewati dinding sel, sehingga isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel melalui proses difusi sehingga akan terjadi kesetimbangan antara larutan di dalam sel dan larutan di luar sel (Ulfah, 2016: 27). Proses maserasi pada penelitian ini menggunakan pelarut metanol karena mampu menarik senyawa metabolit sekunder secara utuh dibandingkan dengan pelarut lain dan dapat menembus dinding sel sampel sehingga mampu melarutkan sarang lebah dan memperkecil terlarutnya lilin yang merupakan pengganggu dalam proses ekstraksi.

a. Ekstraksi Sarang Lebah

Sampel sarang lebah yang telah dibagi menjadi beberapa bagian yaitu kantong madu, kantong polen, propolis dan kantong telur dipotong-potong kecil yang bertujuan untuk memperluas permukaan bidang sentuh antara pelarut dengan simplisia sehingga proses maserasi dapat berlangsung secara efektif, kemudian

sampel direndam dengan pelarut metanol dan dilakukan pengadukan yang bertujuan agar pelarut berdifusi ke dalam sel untuk melarutkan senyawa yang terkandung di dalam sampel sarang lebah dan akan bercampur dengan cairan di sekitarnya sehingga terjadi kesetimbangan. Hal ini terjadi karena konsentrasi lingkungan luar sel lebih tinggi dari pada konsentrasi dalam sel sehingga isi sel termasuk zat aktifnya akan tertarik keluar dan terlarut dalam pelarut.

Penggantian pelarut dilakukan setiap 24 jam dan proses remaserasi diperlukan untuk mengganti larutan yang telah jenuh dengan pelarut yang baru sehingga semua senyawa kimia yang terkandung dalam sampel dapat ditarik secara optimal (Huliselan, dkk., 2015: 159). Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan kapas dan kain blacu yang bertujuan untuk memisahkan filtrat dengan residu, filtrat hasil penyaringan kemudian dievaporasi pada suhu dibawah 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental dan pelarutnya akan menguap. Hasil evaporasi yang diperoleh untuk ekstrak kantong madu berwarna coklat tua dengan bobot 18,3655 g, ekstrak kantong polen berwarna coklat dengan bobot 40,8229 g, ekstrak propolis berwarna coklat tua dengan bobot 29,2579 g dan ekstrak kantong telur berwarna coklat dengan bobot 30,3481 g.

b. Ekstraksi madu

Sampel madu dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 1 liter selama 24 jam. Setelah 24 jam bagian dasar wadah terbentuk lapisan berwarna putih dan bagian atas terbentuk lapisan yang berwarna coklat. Selanjutnya lapisan bagian atas dipekatkan pada suhu dibawah 60°C agar senyawa metabolit sekunder dan gula yang terkandung di dalam madu tidak rusak karena adanya pemanasan dengan menggunakan evaporator sehingga pelarutnya akan menguap dan diperoleh ekstrak

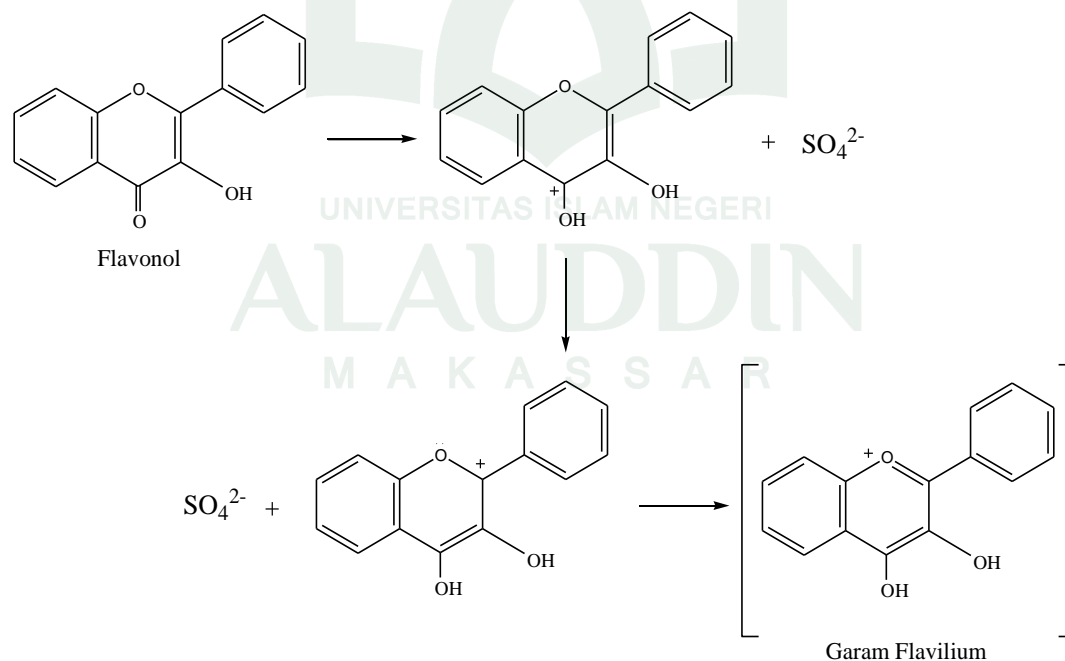
kental. Hasil evaporasi yang diperoleh untuk ekstrak madu berwarna coklat dengan bobot 161,7840 g.

2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia atau uji pendahuluan dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak sarang lebah dan madu sehingga dapat diketahui metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang ditunjukkan pada tabel 4.2, diperoleh hasil positif untuk sampel ekstrak kantong madu, ekstrak kantong polen, ekstrak propolis dan ekstrak kantong telur mengandung senyawa flavonoid, asam fenolat dan tanin. Hal ini sesuai dengan penelitian Yuliana, dkk. (2015) yang menyatakan bahwa kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam sarang lebah yaitu flavonoid, asam fenolat dan tanin. Sedangkan penelitian Thamrin, dkk. (2016), hasil uji fitokimia pada sarang lebah khususnya ekstrak kasar propolis positif mengandung senyawa fenolik.

Uji pendahuluan yang dilakukan pada ekstrak madu diperoleh hasil positif mengandung senyawa flavonoid dan asam fenolat yang ditunjukkan pada tabel 4.2. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sumarlin (2014) menyatakan bahwa madu mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan asam fenolat yang bertanggung jawab sebagai antioksidan. Secara umum madu mengandung senyawa antioksidan yaitu polifenol yang terdiri dari flavonoid dan asam fenolat, hal ini sesuai dengan penelitian Mohammed, dkk. (2010) menyatakan bahwa diantara madu yang dihasilkan oleh lebah *cerana*, *millefera* dan *dorsata* didapatkan bahwa madu dari lebah *dorsata* memiliki kandungan asam fenolat dan flavonoid yang tertinggi.

Uji kandungan flavonoid pada penelitian ini menggunakan asam sulfat sebagai pereaksi. Penambahan asam sulfat berfungsi untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Proses reduksi akan menghasilkan senyawa kompleks berwarna mencolok yaitu merah, jingga atau coklat yang menandakan terbentuknya garam flavilium. Hal ini terjadi karena sebagian besar flavonoid ditemukan dalam bentuk glikosida dimana unit flavonoid terikat pada satu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida. Flavonoid yang berupa glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat diekstrak dengan etanol, metanol maupun air (Latifah, 2015: 14-15). Reaksi pembentukan garam flavilium tertera pada gambar 4.1 sebagai berikut:



Gambar 4.1 Mekanisme reaksi pembentukan garam flavilium

(Sumber: Setyowati, dkk., 2014: 275)

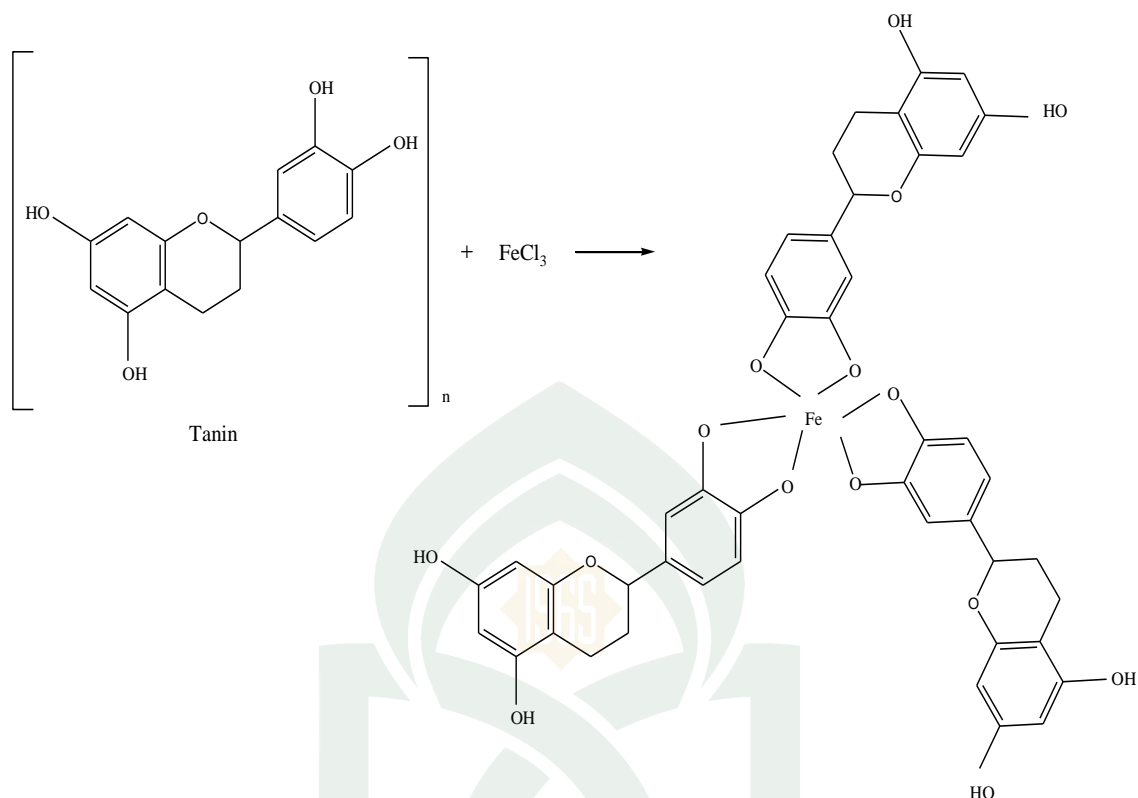
Uji kandungan asam fenolat dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 5%. Pereaksi FeCl_3 mampu bereaksi dengan senyawa fenolik membentuk senyawa kompleks sehingga menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Hal ini menandakan bahwa pada ekstrak sarang lebah dan ekstrak madu mengandung senyawa fenolik. Reaksi yang terjadi dapat dilihat pada gambar 4.2 sebagai berikut:



Gambar 4.2 Reaksi uji fenolik

(Sumber: Putri dan Hidajati, 2015: 4)

Uji kandungan tanin dilakukan dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 1% yang akan membentuk warna hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman terjadi karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} . Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam. Atom Fe merupakan atom logam sedangkan atom O merupakan atom non logam. Atom Fe adalah atom pusat dari senyawa kompleks yang menerima donor elektron, sedangkan atom O merupakan atom donor yang memberikan elektron pada atom pusat Fe. Kecenderungan Fe dalam pembentukan senyawa kompleks dapat mengikat 6 pasang elektron bebas. Ion Fe^{3+} dalam pembentukan senyawa kompleks akan terhibridisasi membentuk hibridisasi $d^2 sp^3$, sehingga akan terisi oleh 6 pasang elektron bebas atom O pada tanin (Mabrurroh, 2015: 29-51). Reaksi yang terjadi antara senyawa tanin dengan FeCl_3 dapat dilihat pada gambar 4.3 sebagai berikut:

Gambar 4.3 Reaksi tanin dengan FeCl_3

(Sumber: Latifah, 2015: 18)

3. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode serapan radikal DPPH. Metode DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Metode pengujian ini berdasarkan pada kemampuan substansi antioksidan tersebut dalam menetralkan radikal bebas. Radikal bebas yang digunakan adalah DPPH. Prinsip dari metode DPPH adalah terjadinya perubahan warna ungu yang sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH, hal ini terjadi karena radikal DPPH memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga memberikan warna ungu. Warna ungu akan berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan.

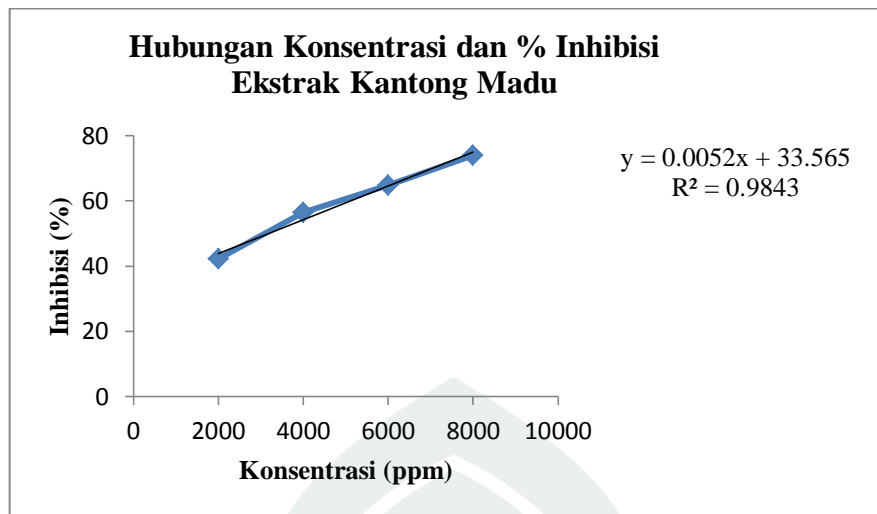
DPPH adalah suatu radikal yang cukup stabil, ketika radikal DPPH bereaksi dengan suatu senyawa antioksidan yang dapat mendonorkan radikal hidrogen. Radikal DPPH akan terus tereduksi membentuk DPPH-H dan warnanya akan berubah dari ungu menjadi ungu pudar menuju warna kuning ketika elektron radikal bebas DPPH berpasangan dengan sebuah hidrogen penangkap radikal bebas dari suatu antioksidan. Perubahan warna yang terjadi akan memberikan nilai absorbansi yang dapat dibaca pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sehingga dapat diketahui nilai persen inhibisi dari senyawa terhadap radikal DPPH yang dapat dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi sampel yang dapat menangkap radikal bebas DPPH sebesar 50%.

Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak kantong madu, ekstrak kantong polen, ekstrak propolis, ekstrak kantong telur, ekstrak madu dan larutan standar asam askorbat dilakukan dengan berbagai konsentrasi yang absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Penggunaan asam askorbat sebagai larutan pembanding dikarenakan asam askorbat merupakan antioksidan alami dan berfungsi sebagai antioksidan sekunder yang mampu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Hal ini terjadi karena asam askorbat mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas (Ikhlās, 2013: 33).

Pembuatan dan penyimpanan larutan DPPH dilakukan di tempat yang gelap agar terhindar dari sinar matahari ataupun cahaya yang dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi pada larutan. Selanjutnya larutan DPPH dicampur dengan metanol p.a dan larutan tersebut digunakan sebagai larutan kontrol yang berfungsi sebagai pembanding dalam menentukan potensi antioksidan pada sampel. Selain itu,

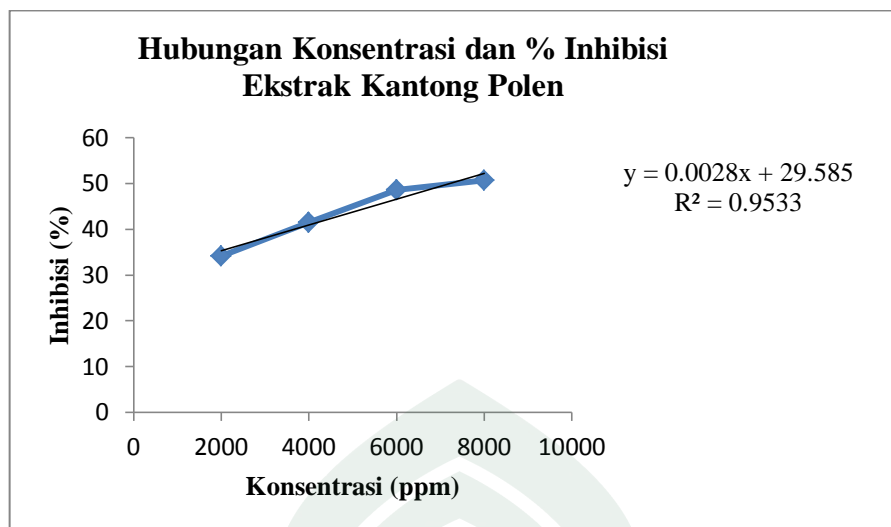
larutan kontrol berfungsi untuk mengetahui absorbansi radikal DPPH sebelum direduksi oleh sampel. Selisih absorbansi sampel yang telah direduksi DPPH dengan absorbansi kontrol merupakan sisa radikal DPPH yang terbaca pada spektrofotometer UV-Vis. Semakin besar selisih maka semakin besar aktivitas antioksidan sampel.

Sebelum pembacaan absorbansi, sampel yang telah ditambahkan dengan larutan DPPH diinkubasi pada suhu 37°C, suhu tersebut digunakan karena telah terkondisikan sehingga reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa metabolit sekunder akan berlangsung lebih cepat dan optimal. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya Latifah (2015) menyatakan bahwa pada suhu 37°C reaksi DPPH dengan sampel lebih stabil yang ditandai dengan nilai absorbansi yang tidak jauh berbeda pada menit ke 30-55. Oleh karena itu, sebelum dilakukan pengukuran nilai aktivitas antioksidan, sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit agar hasil yang diperoleh maksimal. Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan sehingga dapat diperoleh nilai absorbansi rata-rata dari sampel maupun larutan standar. Dari data persen inhibisi pada variasi konsentrasi setiap ekstrak dibuat kurva dengan menghubungkan konsentrasi sampel (sumbu X) terhadap % inhibisi sebagai parameter aktivitas antioksidan (sumbu Y), sehingga diperoleh persamaan regresi linear yang dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa yang menunjukkan nilai IC₅₀. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hubungan variasi konsentrasi ekstrak dengan % inhibisi yang dapat dilihat pada gambar sebagai berikut:



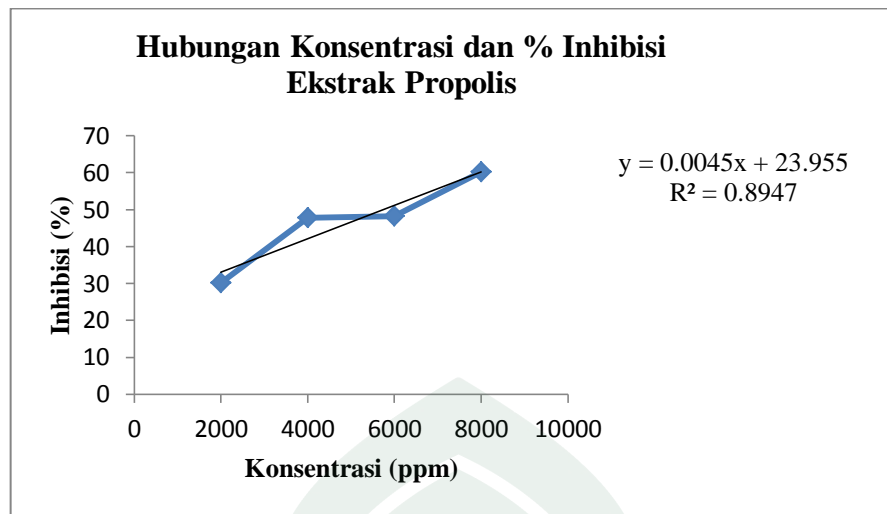
Gambar 4.4 Kurva hubungan konsentrasi dan % inhibisi ekstrak kantong madu

Gambar 4.4 menunjukkan kurva perbandingan konsentrasi ekstrak kantong madu terhadap aktivitas antioksidan, dimana aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak dengan konsentrasi 8000 ppm dan terendah pada konsentrasi 2000 ppm. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak senyawa metabolit sekunder yang mendonorkan atom H pada radikal DPPH dan membentuk senyawa DPPH-H yang lebih stabil. Semakin banyak senyawa DPPH yang terstabilkan oleh senyawa metabolit sekunder maka semakin rendah intensitas warnanya atau memudar sehingga nilai absorbansinya juga semakin kecil, sehingga nilai persen aktivitas antioksidan semakin meningkat. Berdasarkan persamaan regresi linier $y = bx + a$, diperoleh nilai IC_{50} untuk ekstrak kantong madu sebesar 3160,57 ppm.



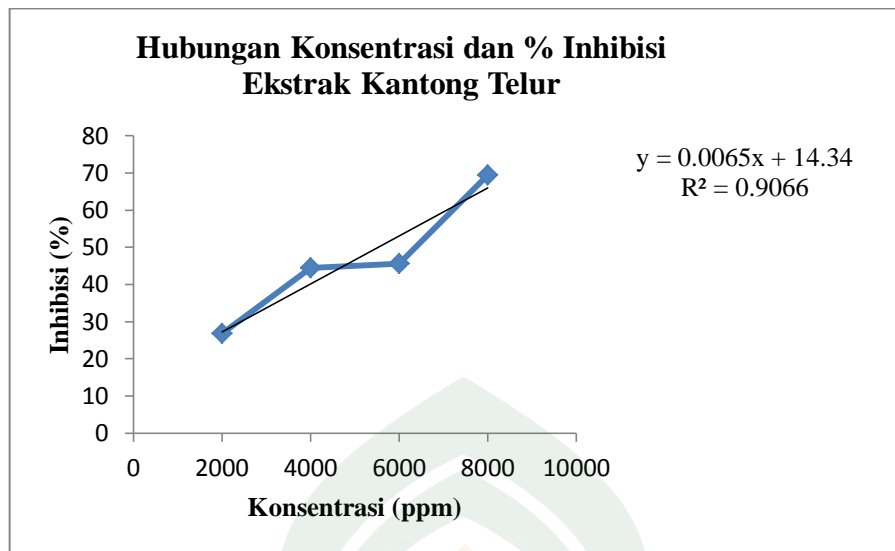
Gambar 4.5 Grafik hubungan konsentrasi dan % inhibisi ekstrak kantong polen

Gambar 4.5 menunjukkan kurva perbandingan konsentrasi ekstrak kantong polen terhadap aktivitas antioksidan, dimana terlihat bahwa aktivitas antioksidan mengalami kenaikan dengan semakin naiknya konsentrasi ekstrak kantong polen. Adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak dengan konsentrasi yang lebih tinggi menyebabkan ekstrak dengan konsentrasi 8000 ppm memberikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Hal tersebut dikarenakan atom hidrogen dari gugus hidroksi yang terkandung dalam ekstrak didonorkan pada senyawa radikal sehingga senyawa radikal dapat distabilkan menjadi DPPH-H dan akan menurunkan nilai absorbansi. Berdasarkan persamaan regresi linier $y = bx + a$, diperoleh nilai IC_{50} untuk ekstrak kantong polen sebesar 7291,07 ppm.



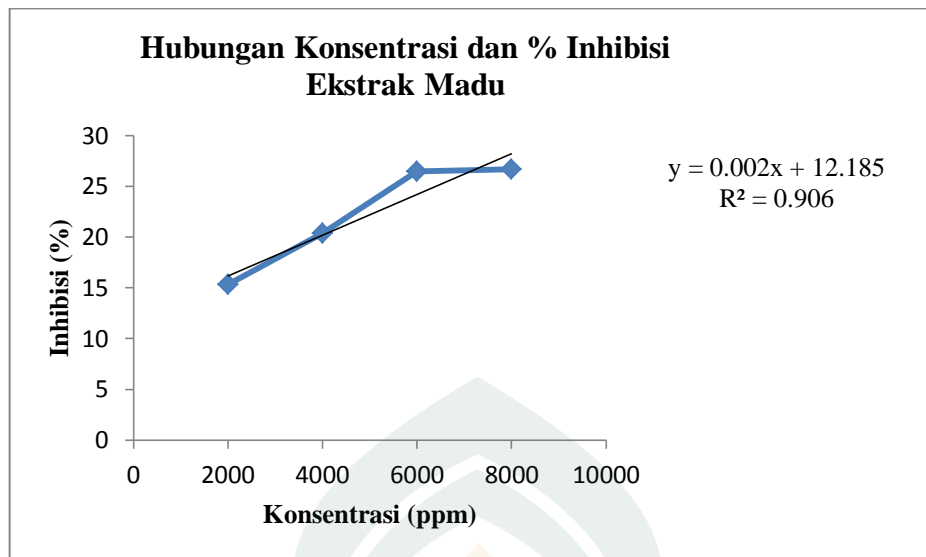
Gambar 4.6 Grafik hubungan konsentrasi dan % inhibisi ekstrak propolis

Gambar 4.6 menunjukkan kurva perbandingan konsentrasi ekstrak propolis terhadap aktivitas antioksidan dimana terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin meningkat aktivitas peredamannya dalam menangkal radikal bebas. Hal ini berkaitan dengan jumlah senyawa metabolit sekunder yang terlarut di dalam ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak elektron yang diberikan oleh senyawa metabolit sekunder kepada radikal DPPH untuk membentuk DPPH-H yang non radikal, sehingga terjadi penurunan nilai absorbansi yang berarti semakin meningkat persen inhibisi dan nilai IC_{50} semakin menurun. Berdasarkan persamaan regresi linier $y = bx + a$, diperoleh nilai IC_{50} untuk ekstrak propolis sebesar 5787,77 ppm.



Gambar 4.7 Grafik hubungan konsentrasi dan % inhibisi ekstrak kantong telur

Gambar 4.7 menunjukkan kurva perbandingan konsentrasi ekstrak kantong telur terhadap aktivitas antioksidan, dimana terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kantong telur maka semakin meningkat aktivitas peredamannya dalam menangkal radikal bebas. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak kandungan metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan yang didonorkan pada radikal DPPH. Radikal DPPH akan menerima atom H dari senyawa antioksidan sehingga membentuk DPPH-H yang bersifat lebih stabil dan akan terjadi penurunan nilai absorbansi yang menyebabkan persen inhibisi semakin meningkat. Berdasarkan persamaan regresi linier $y = bx + a$, diperoleh nilai IC_{50} untuk ekstrak kantong polen sebesar 5486,15 ppm.

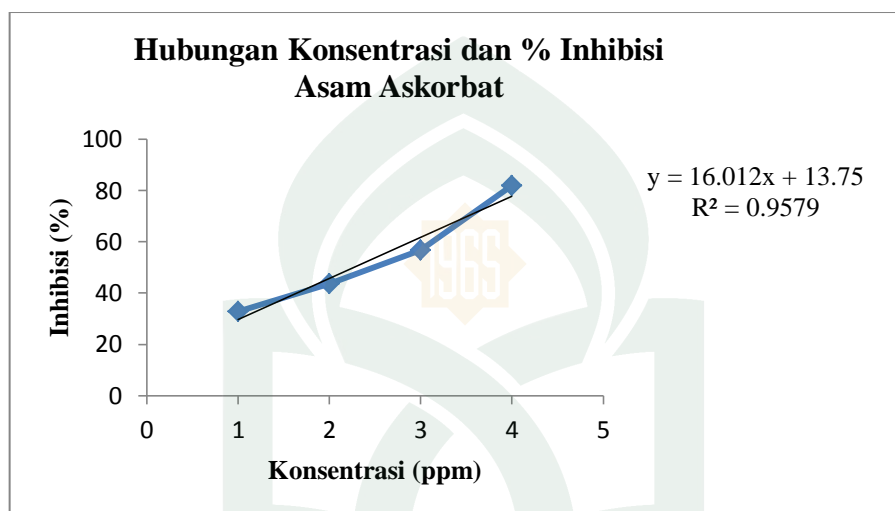


Gambar 4.8 Grafik hubungan konsentrasi dan % inhibisi ekstrak madu

Gambar 4.8 menunjukkan kurva perbandingan konsentrasi ekstrak madu terhadap aktivitas antioksidan, dimana terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak madu maka semakin meningkat aktivitas peredamannya dalam menangkal radikal bebas. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 8000 ppm lebih banyak atom H yang didonorkan pada radikal DPPH untuk membentuk senyawa non radikal DPPH-H. Tingginya konsentrasi ekstrak menyebabkan semakin banyak metabolit sekunder yang terlarut dalam ekstrak sehingga atom H yang didonorkan kepada radikal DPPH semakin banyak dan akan meningkatkan nilai persen inhibisi. Berdasarkan persamaan regresi linier $y = bx + a$, diperoleh nilai IC_{50} untuk ekstrak kantong polen sebesar 18907,5 ppm.

Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Sumarlin (2014) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, maka peluruhan warna ungu DPPH semakin tinggi yang mengakibatkan turunnya nilai absorbansi sampel pada setiap kenaikan konsentrasi. Peredaman warna DPPH terjadi sebab adanya senyawa metabolit sekunder yang dapat memberikan atom hidrogen kepada radikal DPPH

sehingga tereduksi menjadi DPPH-H dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Menurut penelitian Asih (2012) menyatakan bahwa pada madu mengandung metabolit sekunder yang cenderung bersifat semi polar atau polar, dimana senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki gugus hidroksi yang berpotensi untuk meredam radikal DPPH.



Gambar 4.9 Grafik hubungan konsentrasi dan % inhibisi asam askorbat

Gambar 4.9 menunjukkan kurva perbandingan konsentrasi larutan standar asam askorbat terhadap aktivitas antioksidan, dimana terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan asam askorbat maka semakin meningkat aktivitas peredamannya dalam menangkal radikal bebas. Hal ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi larutan asam askorbat maka lebih banyak atom hidrogen dari gugus hidroksi yang akan diberikan kepada radikal DPPH sehingga DPPH tereduksi menjadi DPPH-H. Selain itu, asam askorbat memiliki dua gugus hidroksi yang mengakibatkan lebih mudah dalam mendonorkan atom hidrogennya. Berdasarkan persamaan regresi linier $y = bx + a$, diperoleh nilai IC_{50} untuk larutan asam askorbat sebesar 2,26 ppm.

Menurut Thamrin, dkk. (2016: 59), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} \leq 50$ ppm, senyawa dikatakan sebagai antioksidan kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 ppm, senyawa dikatakan sebagai antioksidan sedang apabila nilai IC_{50} antara 101-150 dan senyawa dikatakan sebagai antioksidan lemah apabila nilai IC_{50} lebih dari 151 ppm. Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh melalui persamaan regresi linier maka dapat disimpulkan bahwa asam askorbat termasuk ke dalam antioksidan yang sangat kuat ($IC_{50} \leq 50$ ppm). Hal ini terjadi karena asam askorbat merupakan senyawa yang murni dibandingkan dengan ekstrak kantong madu, ekstrak kantong polen, ekstrak kantong telur, ekstrak propolis dan ekstrak madu. Selain itu asam askorbat memiliki dua gugus hidroksil yang mengakibatkan lebih mudah dalam pendonoran hidrogen. Sedangkan ekstrak kantong madu, ekstrak kantong polen, ekstrak kantong telur, ekstrak propolis dan ekstrak madu tergolong ke dalam antioksidan lemah karena memiliki nilai IC_{50} lebih dari 151 ppm.

Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Sumarlin (2014) yang menguji sampel madu di pasaran lokal Indonesia dengan variasi konsentrasi 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm, 8000 ppm dan 16000 ppm menghasilkan aktivitas antioksidan yang tertinggi terdapat pada sampel ekstrak etanol madu dari Papua dengan nilai IC_{50} 5453,75 ppm dan terendah pada ekstrak madu dari Jawa Tengah dengan nilai IC_{50} 745750 ppm, nilai aktivitas antioksidan tersebut tergolong antioksidan lemah karena memiliki nilai IC_{50} lebih dari 151 ppm. Perbedaan nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh dari setiap sampel dipengaruhi oleh kandungan senyawa yang terkandung didalamnya, dimana pada penelitian Ratnayani, dkk. (2012) membuktikan bahwa madu dengan jenis bunga yang berbeda memiliki aktivitas antiradikal bebas yang

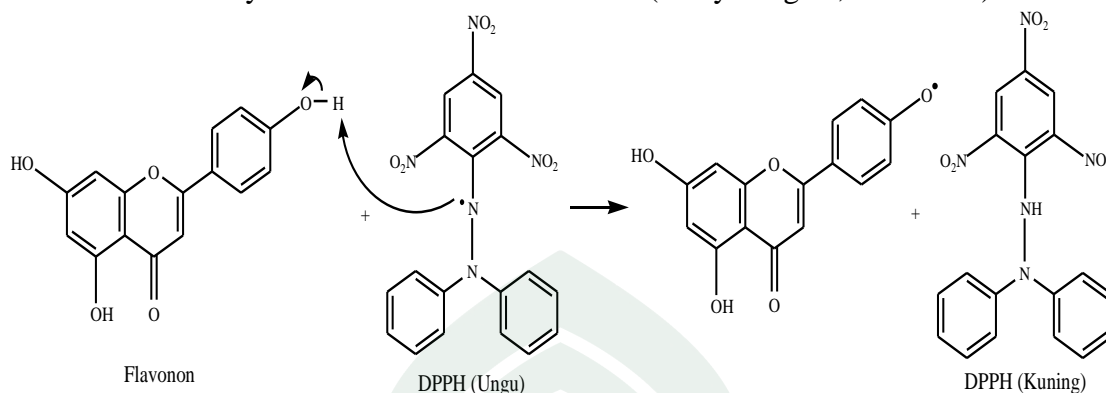
berbeda pula. Perbedaan ini disebabkan karena sumber nektar dari setiap madu berbeda sehingga komposisi senyawanya juga berbeda.

Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak sarang lebah khususnya pada sampel kantong madu memiliki nilai peredaman yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak madu. Hal ini terjadi karena pada sarang lebah mengandung komponen senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak dibandingkan dengan madu. Berdasarkan uji pendahuluan yang tertera pada tabel 4.2, senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam sarang lebah yaitu flavonoid, asam fenolat dan tanin, sedangkan pada madu hanya mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan asam fenolat. Tingginya kemampuan ekstrak kantong madu sebagai antioksidan diduga karena adanya pengaruh dari senyawa yang terkandung dalam kantong madu bercampur dengan senyawa yang terkandung dalam madu sehingga memberikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kantong polen, ekstrak propolis dan ekstrak kantong telur. Mekanisme kerja senyawa yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan yaitu sebagai berikut:

a. Flavonoid

Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik karena merupakan golongan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa polifenol yang memiliki banyak gugus hidroksi (OH). Atom hidrogen dari hidroksi tersebut dapat didonorkan pada senyawa radikal sehingga senyawa radikal dapat distabilkan (Latifah, 2015: 57). Mekanisme kerja dari senyawa flavonoid dalam ekstrak yaitu akan melepaskan atom H, sehingga atom H akan berikatan dengan radikal DPPH membentuk senyawa baru yaitu difenil pikrilhidrazin yang stabil. Sedangkan senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak sebagai penangkap radikal bebas yang kehilangan atom H

akan menjadi radikal baru yang relatif lebih stabil dan tidak berbahaya lagi bagi tubuh karena adanya efek resonansi inti aromatik (Widyaningsih, 2010: 112).

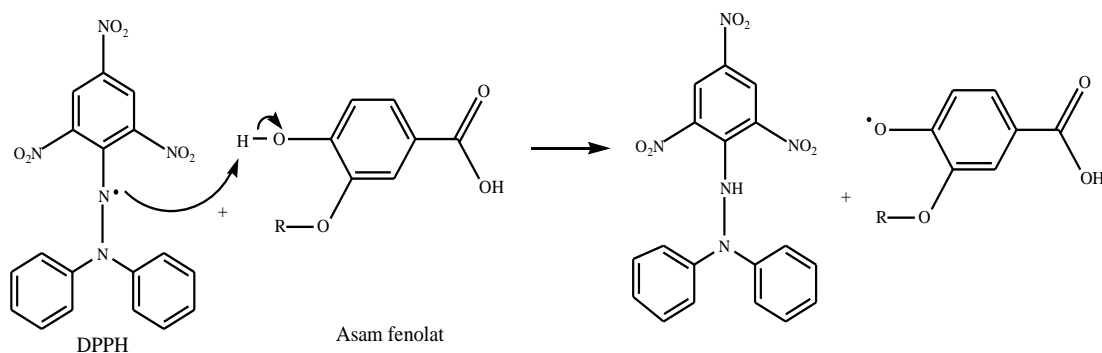


Gambar 4.10 Reaksi DPPH dengan flavonoid

(Sumber: Widyaningsih, 2010: 112)

b. Asam fenolat

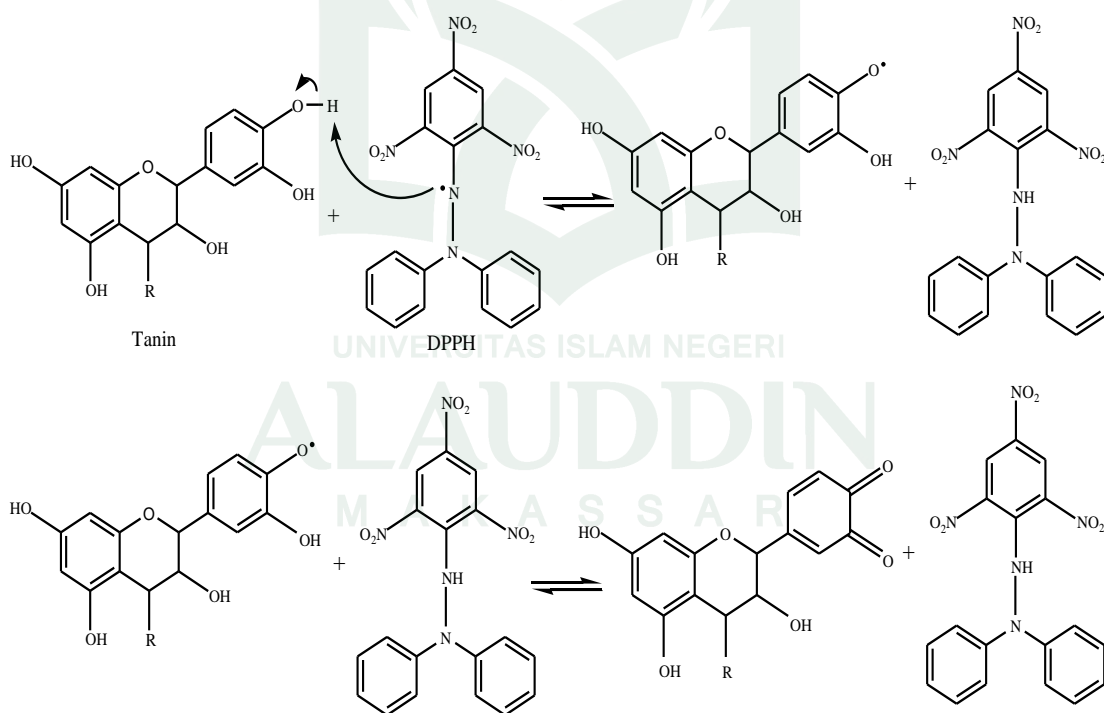
Senyawa alami antioksidan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol. Senyawa ini diklasifikasikan dalam 2 bagian yaitu fenol sederhana dan polifenol. Senyawa tersebut mampu berperan sebagai antioksidan melalui mekanisme penangkapan radikal dengan cara menyumbangkan satu elektron kepada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga radikal bebas akan berkurang (Grafianita, 2011: 14).



Gambar 4.11 Dugaan reaksi DPPH dengan asam fenolat

c. Tanin

Senyawa tanin memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena dipengaruhi oleh kestabilan strukturnya. Tanin merupakan senyawa pereduksi yang baik dan menghambat banyak reaksi oksidasi. Mekanisme kerja senyawa tanin sebagai antioksidan yaitu dengan mendonorkan atom H sebagai peredam radikal DPPH, sehingga terjadi penstabilan radikal tanin dengan adanya resonansi. Kestabilan struktur tanin juga disebabkan oleh kedudukan gugus hidroksi pada posisi orto, yakni gugus OH yang terikat pada C nomor 3 dan nomor 4 dalam cincin B. Struktur ortohidroksil meningkatkan aktivitas antioksidan dari senyawa tanin (Mabruroh, 2015: 62).

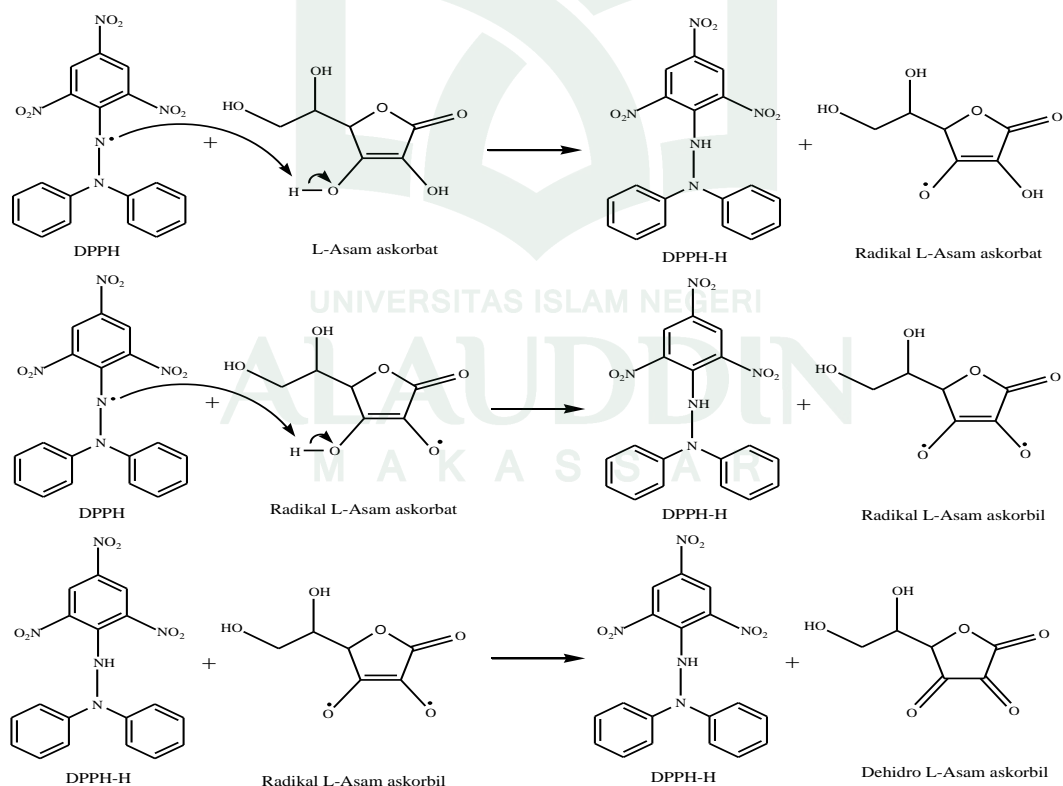


Gambar 4.12 Dugaan reaksi tanin dengan DPPH

(Sumber: Mabruroh, 2015: 62)

d. Asam askorbat

Asam askorbat merupakan radikal yang stabil karena memiliki bentuk yang siklik dengan ikatan rangkap sehingga dapat mendelokalisasikan elektronnya. Selain itu, asam askorbat juga mampu mendonorkan dua atom hidrogennya kepada radikal DPPH dan membentuk radikal L-askorbil (Mabruroh, 2015: 61). Mekanisme asam askorbat sebagai antioksidan yaitu dengan mereduksi radikal bebas DPPH dengan mendonorkan atom hidrogennya sehingga menghasilkan prosuk radikal L-askorbat. Radikal L-asam askorbat akan segera berubah menjadi radikal L-askorbil dan dehidro L-asam askorbil. Radikal-radikal yang terbentuk bersifat stabil. Hal tersebut disebabkan oleh kemampuan radikal untuk menstabilkan diri dengan cara beresonansi (Latifah, 2015: 29).



Gambar 4.13 Reaksi asam askorbat dengan DPPH

(Sumber: Latifah, 2015: 29)

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan:

1. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak sarang lebah secara berturut-turut yaitu ekstrak kantong madu, ekstrak kantong telur, ekstrak propolis, ekstrak kantong polen dan aktivitas antioksidan terendah terdapat pada ekstrak madu.
2. Nilai IC_{50} untuk ekstrak kantong madu sebesar 3160,57 ppm, ekstrak kantong telur memiliki nilai IC_{50} sebesar 5486,15 ppm, ekstrak propolis memiliki nilai IC_{50} sebesar 5787,77 ppm, ekstrak kantong polen memiliki nilai IC_{50} sebesar 7291,07 ppm dan ekstrak madu memiliki nilai IC_{50} sebesar 18907,5 ppm.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan yaitu:

1. Perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut hingga ke tahap isolasi senyawa aktif untuk mengetahui kandungan senyawa yang paling efektif dalam meredam radikal bebas.
2. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari Luwu Utara dengan menggunakan metode lain sehingga dapat dibandingkan hasil yang telah didapatkan dengan metode DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

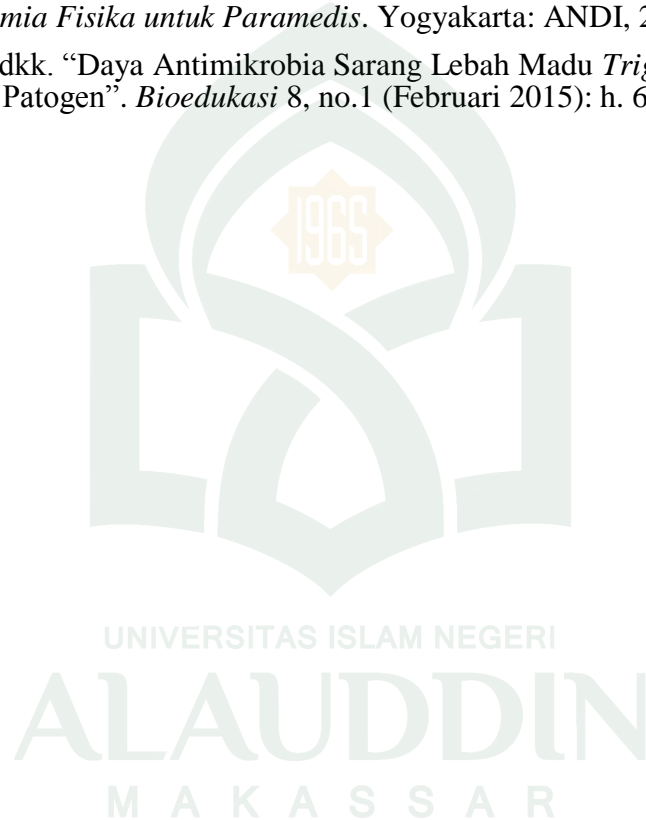
Alqur'anulkarim

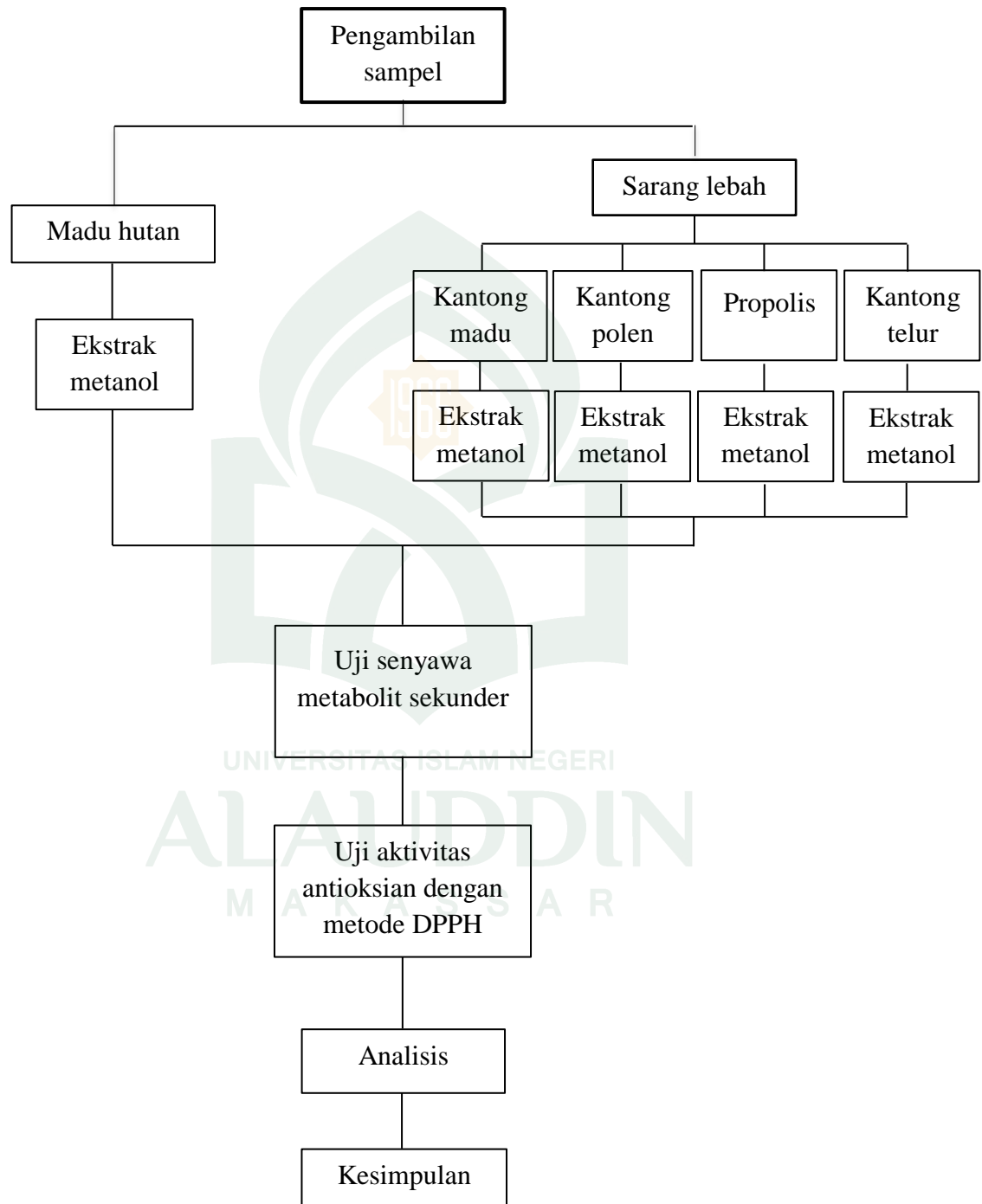
- Amalia, Fini. "The Effect of Honey in Diabetes Mellitus". *J Majority* 4, no. 2 (Januari 2015): h. 6-11.
- Asih, Ida Ayu Raka Astiti, dkk. "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid dari Madu Kelengkeng (*Nephelium Longata L.*)". *Kimia* 6, no. 1 (Januari 2012): h. 72-78.
- Bahreisy, H. Salim dan H. Said Bahreisy. 2003. *Terjemahan Singkat Tafsir Ibnu Katsier Jilid 4*. Surabaya: PT. Bina Ilmu.
- Banowu, Hendri. "Studi Perkembangan Koloni dan Produksi Lebah *Trigona* sp. dari Posisi Stup yang Berbeda". *Skripsi*. Kendari: Fakultas Kehutanan dan Ilmu Lingkungan Universitas Halu Uleo, 2016.
- Bintang, Maria. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga, 2010.
- Chayati, Ichda dan Isnatin Miladiyah. "Kandungan Komponen Fenolat, Kadar Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Madu dari Beberapa Daerah di Jawa dan Sumatera". *MGMI* 6, no. 1 (Desember 2014): h. 11-24.
- Departemen Agama RI. *Al-Qur'an dan Terjemahnya*. Bogor: PT Sygma Examedia Arkanleema, 28 November 2007.
- Fitriana, Wiwit Denny, dkk. "Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*)". *SNIPS* ISBN: 978-602-19655-8-0 (2015): h. 657-660.
- Fryndryani, Luthfi Fitri. "Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa dalam Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) dengan Metode DPPH". *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta, 2016.
- Grafianita. "Kadar Kurkuminoid, Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Simplicia Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) pada Berbagai Teknis Pengeringan". *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, 2011.
- Haeria. *Kimia Produk Alami*. Makassar: Alauddin-press, 2014.
- Hamzah, Desri. "Produksi Lebah Madu (*Apis cerana*) yang Dipelihara pada Sarang Tradisional dan Modern di Desa Kuapan Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar". *Skripsi*. Pekanbaru: Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau, 2011.
- Huliselan, Yosina M., dkk. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan n-Heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.)". *Ilmiah Farmasi* 4, no. 3 (Agustus 2015): h. 155-163.
- Ikhlas, Nur. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* Linn) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)".

- Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, 2013.
- Ilyas, Asriani. *Kimia Organik Bahan Alam*. Makassar: Alauddin-press, 2013.
- Irianti, Tatang, dkk. "The Activity of Radical Scavenging of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) by Ethanolic Extracts of Mengkudu Leaves (*Morinda Citrifolia* L.), Brotowali Stem (*Tinospora Crispa* L.), Its Water Fraction and Its Hydrolized Fraction". *Traditional Medicine Journal* 20, no. 3 (2015): h. 140-148.
- Istiqomah. "Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*)". *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, 2013.
- Latifah. "Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaempferia galanga* L. dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)". *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, 2015.
- Mabrurroh, Asasu Iqonil. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dan Identifikasinya". *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, 2015.
- Mohamed, Mahaneem, dkk. "Studies on the Antioxidant Properties of Tualang Honey of Malaysia. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 7, no. 1 (2010): h.59-63.
- Moniruzzaman, Mohammed, dkk. "Physicochemical and Antioxidant Properties of Malaysian Honeys Produced by Apis Cerana, Apis dorsata and Apis mellifera". *BMC Complementary and Alternative Medicine* 1472-6882/13/43 (2013): h. 1-12.
- Munte, Liliyanti, dkk. "Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.)". *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi* 4, no. 3 (Agustus 2015): h. 41-50.
- Muslim, Teguh. "Potensi Madu Hutan Sebagai Obat dan Pengelolaannya di Indonesia". *Prosiding Seminar Balitek KSDA* (Desember 2014): h. 67-78.
- Nagir, Muhammad Teguh. "Sebaran dan Karakteristik Persarangan *Apis dorsata Binghami* Cockerell (Hymenoptera: Apidae) di Hutan Maros, Sulawesi Selatan". Tesis. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, 2016.
- Parwata, I M. Oka Adi, dkk. "Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten pada Madu Randu (*Ceibe pentandra*) dan Madu Kelengkeng (*Nephelium longata* L.)". *Kimia* 4, no. 1 (Januari 2010): h. 54-62.
- Putri, Ade Aprilia Surya dan Nurul Hidajati. "Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*)". *UNESA Journal of Chemistry* 4, no. 1 (Januari 2015): 1-6.
- Putri, Mega Kurnia. "Ekstraksi Senyawa Fenolik pada Kulit Ari Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Menggunakan Irradiasi Microwave dan Uji Aktivitas

- Antioksidan”. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang, 2015.
- Putri, Tri Utami. “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bayur Elang (*Pterospermum diversifolium*) dengan Metode DPPH (1,1-dyphenyl-2-picrylhydrazyl) dan Identifikasi Metabolit Sekunder pada Fraksi Aktif”. *Skripsi*. Bengkulu: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu, 2014.
- Rahma, Sitti, dkk. “Pengaruh Antioksidan Madu Dorsata dan Madu Trigona Terhadap Penghambatan Oksidasi LDL pada Mencit Hiperkolesterolemia”. *JST Kesehatan* 4, no. 4 (Oktober 2014): h. 377-384.
- Ratnayani, Ketut, dkk. “Kadar Total Senyawa Fenolat pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng serta Uji Aktivitas Antiradikal Bebas dengan Metode DPPH (*Difenilpikril Hidrazil*)”. *Kimia* 6, no. 2 (Juli 2012): h. 163-168.
- Salamah, Nina dan Erlinda Widyasari. “Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2’-difenil-1-pikrilhidrazil”. *Pharmaciana* 5, no. 1 (2015): h. 25-34.
- Salatnaya, Hearty. “Produktivitas Lebah *Trigona spp.* Sebagai Penghasil Propolis pada Perkebunan Pala Monokultur dan polikultur di Jawa Barat.” *Tesis*, Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, 2012.
- Selawa, Widya, dkk. “Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.)”. *Ilmiah Farmasi* 2, no 1 (Februari 2013): h. 18-22.
- Setyowati, Widiastuti Agustina Eko, dkk. “Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk”. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI* ISBN: 979363174-0 (2014): h. 271-280.
- Shihab, M. Quraish. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur’an Volume 6*. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- Soleha, Rahmi Mar’atus. “Pengaruh Suhu Pemanasan dan Lama Penyimpanan terhadap Kualitas Madu Asal Desa Terasa Berdasarkan Kandungan 5-(Hidroksimetil) Furan-2-Karbaldehida (HMF)”. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, 2015.
- Sumarlin, La Ode, dkk. “Aktivitas Antikanker dan Antioksidan Madu di Pasaran Lokal Indonesia”. *Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)* 19, no. 3 (2014): h. 136-144.
- Syaifuddin. “Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*Alternanthera amoena* Voss.) Segar dan Rebus dengan Metode DPPH (1,1-dyphenyl-2-picrylhydrazyl)”. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Walisongo, 2015.
- Thamrin, Aswin, dkk. “Uji Fitokimia, Toksisitas serta Antioksidan Ekstrak Propolis Pembungkus Madu Lebah *Trigona incisa* dengan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl (DPPH)”. *Jurnal Kimia Mulawarman* 14, no. 1 (2016): h. 54-60.

- Tsao, Rong. "Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenol". *Nutrients* 2, ISSN 2072-6643 (2010): h. 1231-1246.
- Ulfah, Sonia. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* Linn) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)". *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, 2015.
- Widyaningsih, Wahyu. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura procumbens*) dengan Metode DPPH (1,1-dyphenyl-2-picrilhidrazil)". *Prosiding Seminar Nasional Kosmetika Alami* ISBN: 978-979-18458-2-3 (Juni 2010): h. 109-115.
- Yazid, Estien. *Kimia Fisika untuk Paramedis*. Yogyakarta: ANDI, 2005.
- Yuliana, Renita, dkk. "Daya Antimikrobia Sarang Lebah Madu *Trigona* spp terhadap Mikrobia Patogen". *Bioedukasi* 8, no.1 (Februari 2015): h. 67-72.

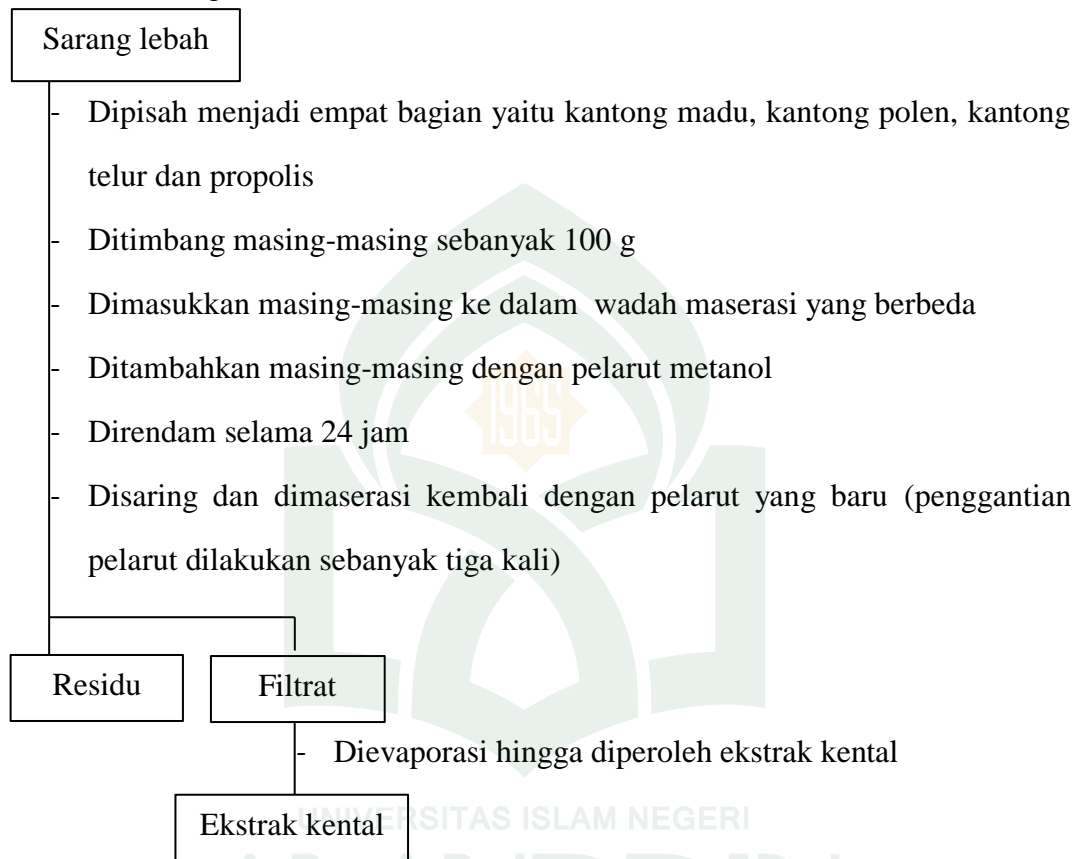


Lampiran 1: Skema Penelitian

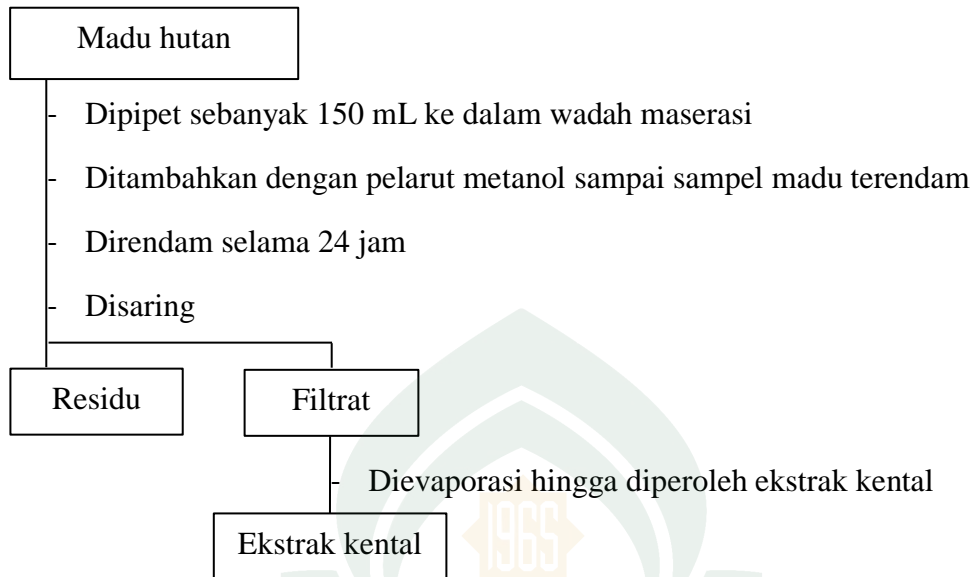
Lampiran 2: Skema Prosedur Kerja

1. Ekstraksi

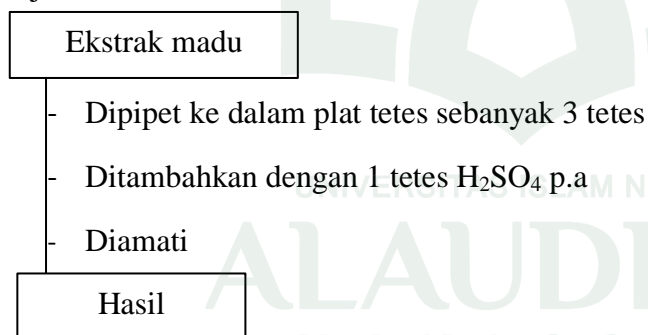
a. Ekstraksi sarang lebah



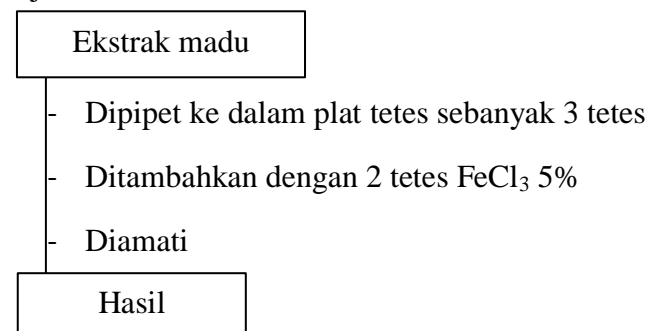
b. Ekstraksi madu hutan

**2. Skrining Fitokimia**

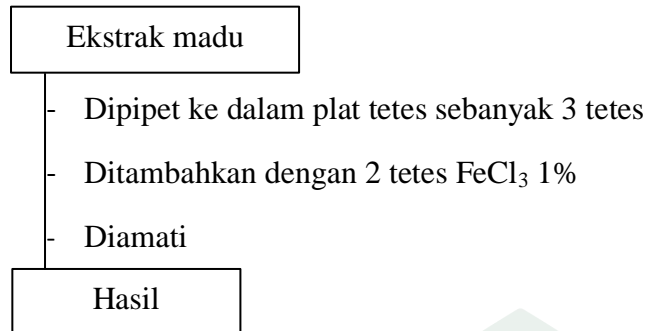
a. Uji Flavonoid



b. Uji Fenolik



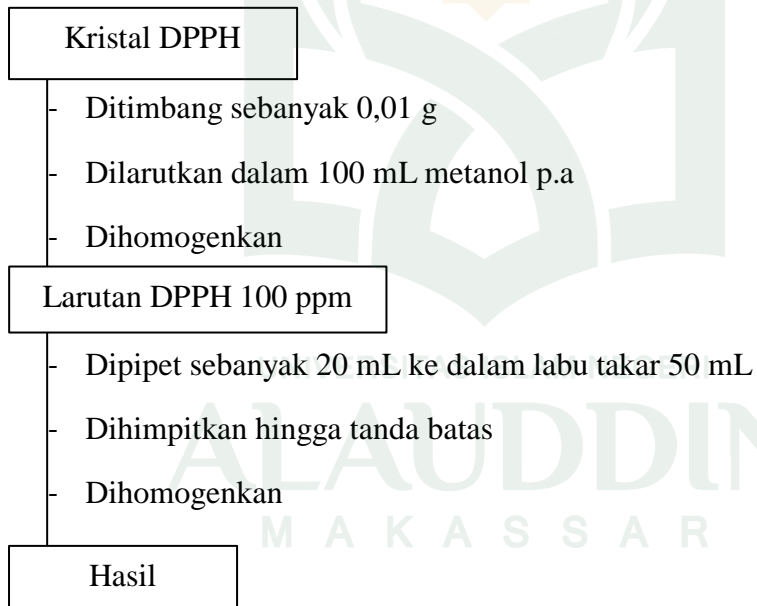
c. Uji Tanin



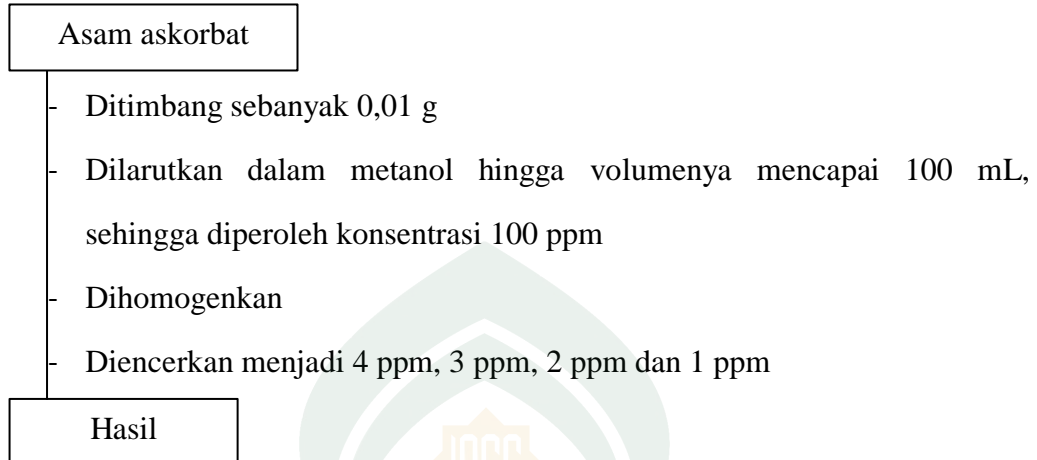
4. Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan Larutan Uji

1) Pembuatan Larutan DPPH

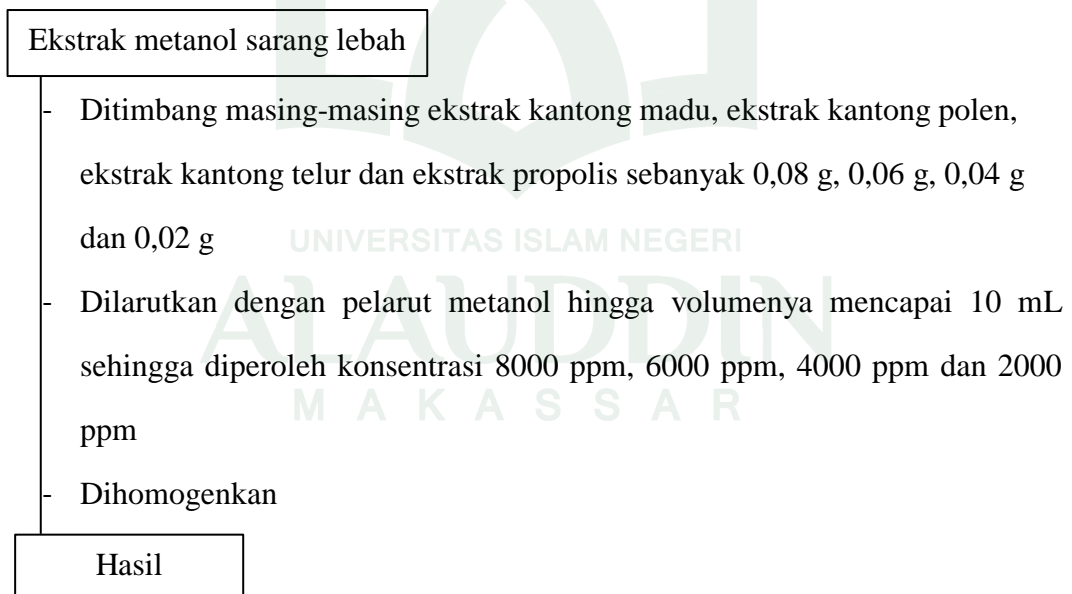


2) Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat



3) Pembuatan Larutan Ekstrak

a) Pembuatan larutan ekstrak sarang lebah



b) Pembuatan Larutan Ekstrak Madu Hutan

Ekstrak metanol madu hutan

- Ditimbang sebanyak 0,08 g, 0,06 g, 0,04 g dan 0,02 g
- Dilarutkan dengan pelarut metanol hingga volumenya mencapai 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 8000 ppm, 6000 ppm, 4000 ppm dan 2000 ppm
- Dihomogenkan

Hasil

b. Pengukuran Serapan Larutan Uji

1) Pengukuran Serapan Larutan DPPH

Larutan DPPH 40 ppm

- Dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 3 mL
- Ditambahkan 3 mL metanol p.a
- Dihomogenkan
- Ditutup dengan aluminium foil
- Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C
- Diukur serapan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm

Hasil

2) Pengukuran Serapan Larutan Standar Asam Askorbat

Larutan standar asam askorbat

- Dimasukkan sebanyak 3 mL dalam tabung reaksi
- Ditambahkan 3 mL larutan DPPH 40 ppm
- Dihomogenkan
- Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C
- Diukur serapan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm

Hasil

3) Pengukuran Serapan Larutan Ekstrak

a) Pengukuran Serapan Larutan Ekstrak Sarang Lebah

Ekstrak metanol sarang lebah

- Larutan ekstrak metanol 8000 ppm, 6000 ppm, 4000 ppm dan 2000 ppm dipipet masing-masing sebanyak 3 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
- Ditambahkan 3 mL larutan DPPH 40 ppm
- Dihomogenkan
- Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C
- Diukur serapan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm

Hasil

b) Pengukuran Larutan Ekstrak Madu Hutan

Ekstrak metanol madu hutan

- Larutan ekstrak metanol 8000 ppm, 6000 ppm, 4000 ppm dan 2000 ppm dipipet masing-masing sebanyak 3 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
- Ditambahkan 3 mL larutan DPPH 40 ppm
- Dihomogenkan
- Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C
- Diukur serapan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 517 nm

Hasil

Lampiran 3: Analisis Data

1. Variasi Konsentrasi Ekstrak

- a. Perhitungan ekstrak konsentrasi 8000 ppm

$$\text{Bobot} = \text{konsentrasi} \times \text{volume}$$

$$\text{Bobot} = 8000 \text{ mg/L} \times 0,01 \text{ L}$$

$$\text{Bobot} = 80 \text{ mg}$$

$$\text{Bobot} = 0,08 \text{ g}$$

- b. Perhitungan ekstrak konsentrasi 6000 ppm

$$\text{Bobot} = \text{konsentrasi} \times \text{volume}$$

$$\text{Bobot} = 6000 \text{ mg/L} \times 0,01 \text{ L}$$

$$\text{Bobot} = 60 \text{ mg}$$

$$\text{Bobot} = 0,06 \text{ g}$$

- c. Perhitungan ekstrak konsentrasi 4000 ppm

$$\text{Bobot} = \text{konsentrasi} \times \text{volume}$$

$$\text{Bobot} = 4000 \text{ mg/L} \times 0,01 \text{ L}$$

$$\text{Bobot} = 40 \text{ mg}$$

$$\text{Bobot} = 0,04 \text{ g}$$

- d. Perhitungan ekstrak konsentrasi 2000 ppm

$$\text{Bobot} = \text{konsentrasi} \times \text{volume}$$

$$\text{Bobot} = 2000 \text{ mg/L} \times 0,01 \text{ L}$$

$$\text{Bobot} = 20 \text{ mg}$$

$$\text{Bobot} = 0,02 \text{ g}$$

2. Variasi Konsentrasi Larutan Standar Asam Askorbat

- a. Perhitungan larutan standar 100 ppm

$$\text{Bobot} = \text{konsentrasi} \times \text{volume}$$

$$\text{Bobot} = 100 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L}$$

$$\text{Bobot} = 10 \text{ mg}$$

$$\text{Bobot} = 0,01 \text{ g}$$

- b. Perhitungan larutan standar 4 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 4 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{4 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL}$$

- c. Perhitungan larutan standar 3 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 3 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{3 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,3 \text{ mL}$$

- d. Perhitungan larutan standar 2 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL}$$

- e. Perhitungan larutan standar 1 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 1 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL}$$

3. Larutan DPPH

- a. Perhitungan larutan DPPH 100 ppm

$$\text{Bobot} = \text{konsentrasi} \times \text{volume}$$

$$\text{Bobot} = 100 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,1 \text{ L}$$

$$\text{Bobot} = 10 \text{ mg}$$

$$\text{Bobot} = 0,01 \text{ g}$$

- b. Perhitungan larutan DPPH 40 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \text{ ppm} \times V_1 = 40 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{40 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 20 \text{ mL}$$

4. Perhitungan % Inhibisi

a. Ekstrak kantong madu

1) Konsentrasi 2000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3505 - 0,2022}{0,3505} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1483}{0,3505} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 42,3109\%$$

2) Konsentrasi 4000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3505 - 0,1525}{0,3505} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1980}{0,3505} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 56,4907\%$$

3) Konsentrasi 6000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3505 - 0,1233}{0,3505} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2272}{0,3505} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 64,8216\%$$

4) Konsentrasi 8000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3505 - 0,0912}{0,3505} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2593}{0,3505} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 73,9800\%$$

b. Ekstrak kantong polen

1) Konsentrasi 2000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2153 - 0,1417}{0,2153} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,0736}{0,2153} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 34,1848\%$$

2) Konsentrasi 4000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2153 - 0,1259}{0,2153} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,0894}{0,2153} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 41,5234\%$$

3) Konsentrasi 6000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2153 - 0,1107}{0,2153} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1046}{0,2153} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 48,5833\%$$

4) Konsentrasi 8000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2153 - 0,1061}{0,2153} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1092}{0,2153} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 50,7199\%$$

c. Ekstrak kantong telur

1) Konsentrasi 2000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3686 - 0,2572}{0,3686} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1114}{0,3686} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 30,2224\%$$

2) Konsentrasi 4000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3686 - 0,1972}{0,3686} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1759}{0,3686} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 47,7211\%$$

3) Konsentrasi 6000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3686 - 0,1909}{0,3686} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1777}{0,3686} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 48,2094\%$$

4) Konsentrasi 8000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3686 - 0,1465}{0,3686} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2221}{0,3686} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 60,2550\%$$

d. Ekstrak propolis

1) Konsentrasi 2000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3484 - 0,2549}{0,3484} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,0935}{0,3484} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 26,8369\%$$

2) Konsentrasi 4000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3484 - 0,1934}{0,3484} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1550}{0,3484} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 44,4890\%$$

3) Konsentrasi 6000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3484 - 0,1893}{0,3484} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1591}{0,3484} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 45,6659\%$$

4) Konsentrasi 8000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3484 - 0,1064}{0,3484} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2420}{0,3484} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 69,46\%$$

e. Ekstrak madu

1) Konsentrasi 2000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3700 - 0,3133}{0,3700} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,0567}{0,3700} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 15,3243\%$$

2) Konsentrasi 4000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3700 - 0,2945}{0,3700} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,0755}{0,3700} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 20,4054\%$$

3) Konsentrasi 6000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3700 - 0,2720}{0,3700} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,0480}{0,3700} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 26,4864\%$$

4) Konsentrasi 8000 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3700 - 0,2713}{0,3700} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,0987}{0,3700} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 26,6756\%$$

f. Larutan standar asam askorbat

1) Konsentrasi 1 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3542 - 0,2377}{0,3542} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1165}{0,3542} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 32,8910\%$$

2) Konsentrasi 2 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3542 - 0,1998}{0,3542} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,1544}{0,3542} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 43,5911\%$$

3) Konsentrasi 3 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3542 - 0,1531}{0,3542} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2011}{0,3542} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 56,7758\%$$

4) Konsentrasi 4 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,3542 - 0,0642}{0,3542} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,2900}{0,3542} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = 81,8746\%$$

5. Perhitungan *Inhibitory Concentration* (IC₅₀)

- a. Ekstrak kantong madu

$$y = bx + a$$

$$y = 0,0052x + 33,565$$

$$50 = 0,0052x + 33,565$$

$$x = \frac{50 - 33,565}{0,0052}$$

$$x = \frac{16,435}{0,0052}$$

$$x = 3160,57 \text{ ppm}$$

- b. Ekstrak kantong polen

$$y = bx + a$$

$$y = 0,0028x + 29,585$$

$$50 = 0,0028x + 29,585$$

$$x = \frac{50 - 29,585}{0,0028}$$

$$x = \frac{20,415}{0,0028}$$

$$x = 7291,07 \text{ ppm}$$

- c. Ekstrak kantong telur

$$y = bx + a$$

$$y = 0,0045x + 23,955$$

$$50 = 0,0045x + 23,955$$

$$x = \frac{50 - 23,955}{0,0045}$$

$$x = \frac{26,045}{0,0045}$$

$$x = 5787,77 \text{ ppm}$$

d. Ekstrak Propolis

$$y = bx + a$$

$$y = 0,0065x + 14,34$$

$$50 = 0,0065x + 14,34$$

$$x = \frac{50 - 14,34}{0,0065}$$

$$x = \frac{35,66}{0,0065}$$

$$x = 5486,15 \text{ ppm}$$

e. Ekstrak madu

$$y = bx + a$$

$$y = 0,002x + 12,185$$

$$50 = 0,002x + 12,185$$

$$x = \frac{50 - 12,185}{0,002}$$

$$x = \frac{37,815}{0,002}$$

$$x = 18907,5 \text{ ppm}$$

f. Larutan standar asam askorbat

$$y = bx + a$$

$$y = 16,012x + 13,75$$

$$50 = 16,012x + 13,75$$

$$x = \frac{50 - 13,75}{16,012}$$

$$x = \frac{36,25}{16,012}$$

$$x = 2,26 \text{ ppm}$$



Lampiran 4: Dokumentasi Penelitian

1. Preparasi Sampel



Sarang lebah madu hutan Luwu Utara yang masih utuh



Kantong madu



Kantong polen



Kantong telur



Propolis



Madu hutan



Sarang lebah dipotong-potong



Penimbangan sampel

2. Ekstraksi Sampel

Proses Perendaman



Kantong madu



Kantong Polen



Propolis



Kantong telur

Proses Penyaringan



Kantong madu



Kantong Polen



Propolis



Kantong telur

Filtrat hasil penyaringan



Kantong madu



Kantong Polen



Propolis



Kantong telur



Proses evaporasi



Ekstrak kantong madu



Ekstrak kantong polen



Ekstrak kantong telur



Ekstrak propolis



Ekstrak madu

3. Persiapan Ekstrak Sampel



Proses penimbangan














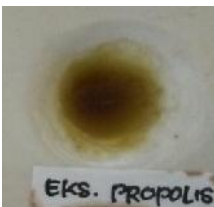



Proses melarutkan ekstrak



Variasi konsentrasi ekstrak

4. Skrining Fitokimia

| Sampel | Skrining Fitokimia | | |
|----------------------------------|---|--|---|
| | Uji Flavonoid | Uji Asam Fenolat | Uji Tanin |
| Ekstrak Metanol Madu |  |  |  |
| Ekstrak Metanol Kantong Madu |  |  |  |
| Ekstrak Metanol Kantong Polen |  |  |  |
| Ekstrak Metanol Kantong Telur |  |  |  |
| Ekstrak Metanol Propolis |  |  |  |

5. Pembuatan Larutan Asam Askorbat



Proses penimbangan



Proses pelarutan

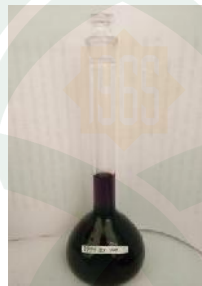


Proses pengenceran

6. Pembuatan Larutan DPPH



Penimbangan DPPH



Proses melarutkan DPPH



Pengenceran larutan DPPH

7. Uji Aktivitas Antioksidan



Pencampuran



Proses inkubasi

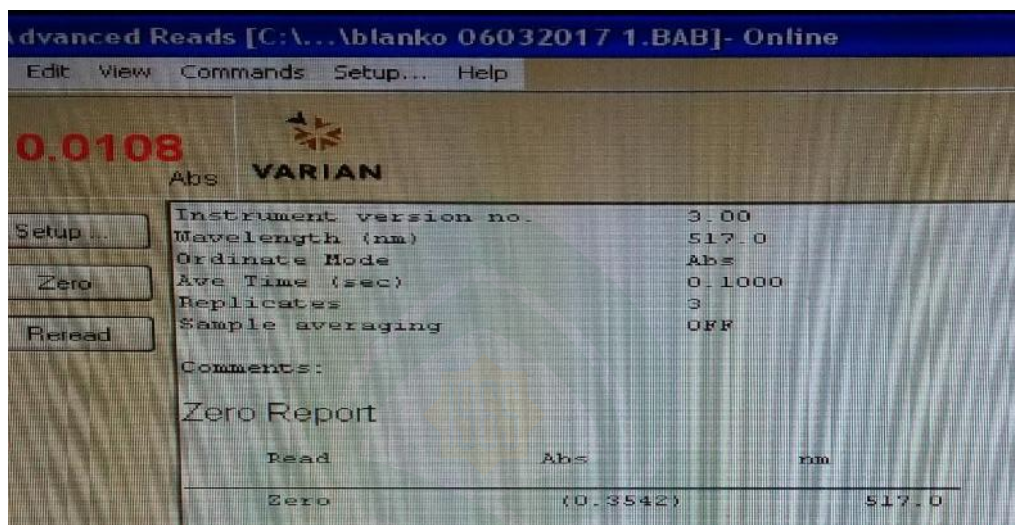


Pembacaan absorbansi

8. Hasil Pembacaan Absorbansi

a. Asam Askorbat

1) Blanko



2) Larutan Asam Askorbat

| Analysis | | | | | | |
|---------------------------------------|---|--------|--------|------|----------|--------|
| Collection time 3/11/2010 12:33:44 AM | | | | | | |
| Sample | R | Mean | SD | %RSD | Readings | |
| Standar 1 | | | | | | 0.0645 |
| | R | | | | | 0.0641 |
| | R | 0.0642 | 0.0002 | 0.35 | | 0.0641 |
| Standar 2 | | | | | | 0.1532 |
| | R | | | | | 0.1529 |
| | R | 0.1531 | 0.0002 | 0.14 | | 0.1533 |
| Standar 3 | | | | | | 0.1997 |
| | R | | | | | 0.1999 |
| | R | 0.1998 | 0.0001 | 0.04 | | 0.1998 |
| Standar 4 | | | | | | 0.2376 |
| | R | | | | | 0.2375 |
| | R | 0.2377 | 0.0002 | 0.09 | | 0.2379 |

Results Flags Legend
R = Repeat reading

Read sequence complete

b. Ekstrak Kantong Madu

1) Blanko

Advanced Reads [C:\V...Antioksidan 03062017.BAB] Online

Commands Setup... Help

Abs **VARIAN**

Advanced Reads Report

| | |
|-------------|----------------------------|
| Report time | 3/11/2010 12:04:49 AM |
| Method | |
| Batch name | C:\Varian\Cary Winuw\antio |
| Application | Advanced Reads 3.00 (339) |
| Operator | |

Instrument Settings

| | |
|-----------------------|---------|
| Instrument | Cary 50 |
| Instrument version no | 3.00 |
| Wavelength (nm) | 517.0 |
| Ordinate Mode | Abs |
| Ave Time (sec) | 0.1000 |
| Replicates | 3 |
| Sample averaging | OFF |

Comments:

Zero Report

| Read | Abs | nm |
|------|----------|-------|
| Zero | (0.3505) | 517.0 |

2) Konsentrasi 2000 ppm

| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| R | | | | 0.2021 |
| R | | | | 0.2019 |
| R | 0.2022 | 0.0003 | 0.15 | 0.2025 |

3) Konsentrasi 4000 ppm

| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| R | | | | 0.1536 |
| R | | | | 0.1524 |
| R | 0.1525 | 0.0011 | 0.75 | 0.1514 |

4) Konsentrasi 6000 ppm

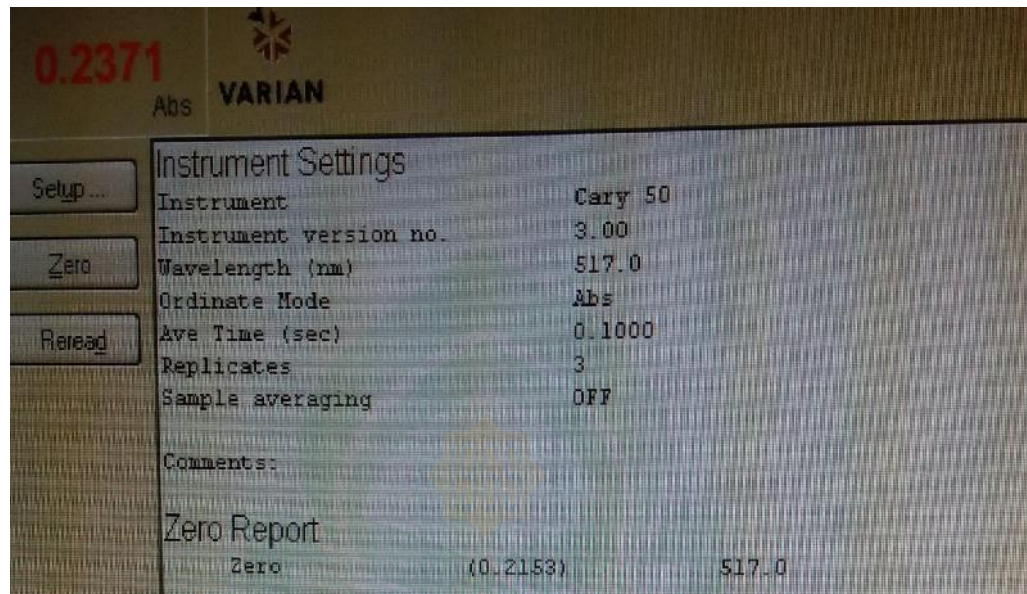
| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| R | | | | 0.1236 |
| R | | | | 0.1236 |
| R | 0.1233 | 0.0005 | 0.40 | 0.1227 |

5) Konsentrasi 8000 ppm

| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| R | | | | 0.0903 |
| R | | | | 0.0929 |
| R | 0.0912 | 0.0014 | 1.53 | 0.0905 |

c. Ekstrak Kantong Polen

1) Blanko



2) Konsentrasi 2000 ppm

| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| | | | | 0.1414 |
| R | | | | 0.1423 |
| R | 0.1417 | 0.0005 | 0.38 | 0.1414 |

3) Konsentrasi 4000 ppm

| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| | | | | 0.1240 |
| R | | | | 0.1246 |
| R | 0.1259 | 0.0028 | 2.19 | 0.1291 |

4) Konsentrasi 6000 ppm

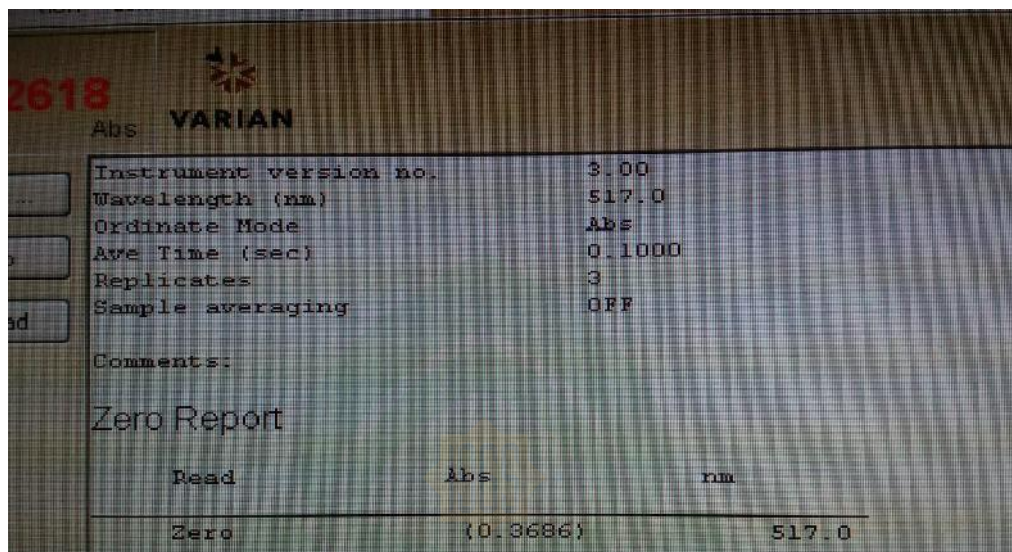
| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| | | | | 0.1116 |
| R | | | | 0.1110 |
| R | 0.1107 | 0.0011 | 0.98 | 0.1095 |

5) Konsentrasi 8000 ppm

| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| | | | | 0.1065 |
| R | | | | 0.1061 |
| R | 0.1061 | 0.0004 | 0.37 | 0.1057 |

d. Ekstrak Propolis

1) Blanko



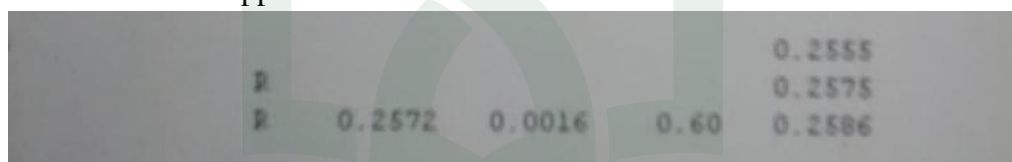
2618
Abs **VARIAN**

| | |
|------------------------|--------|
| Instrument version no. | 3.00 |
| Wavelength (nm) | 517.0 |
| Ordinate Mode | Abs |
| Ave Time (sec) | 0.1000 |
| Replicates | 3 |
| Sample averaging | OFF |

Comments:
Zero Report

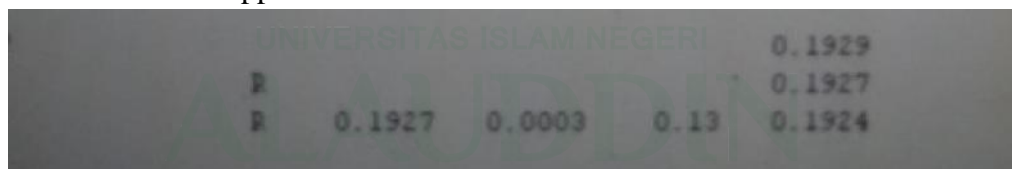
| Read | abs | nm |
|------|----------|-------|
| Zero | (0.3686) | 517.0 |

2) Konsentrasi 2000 ppm



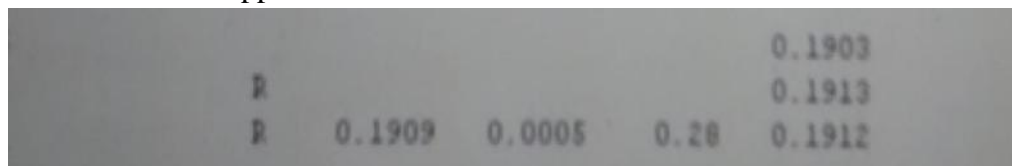
| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| R | | | | 0.2555 |
| R | | | | 0.2575 |
| R | 0.2572 | 0.0016 | 0.60 | 0.2586 |

3) Konsentrasi 4000 ppm



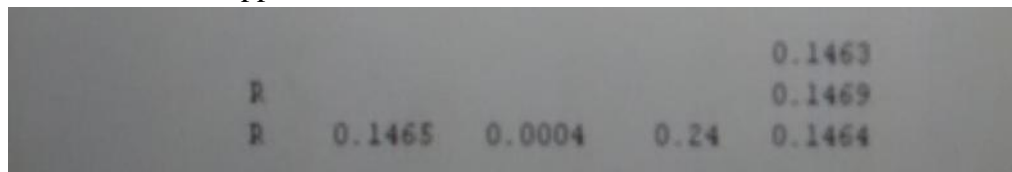
| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| R | | | | 0.1929 |
| R | | | | 0.1927 |
| R | 0.1927 | 0.0003 | 0.13 | 0.1924 |

4) Konsentrasi 6000 ppm



| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| R | | | | 0.1903 |
| R | | | | 0.1913 |
| R | 0.1909 | 0.0005 | 0.28 | 0.1912 |

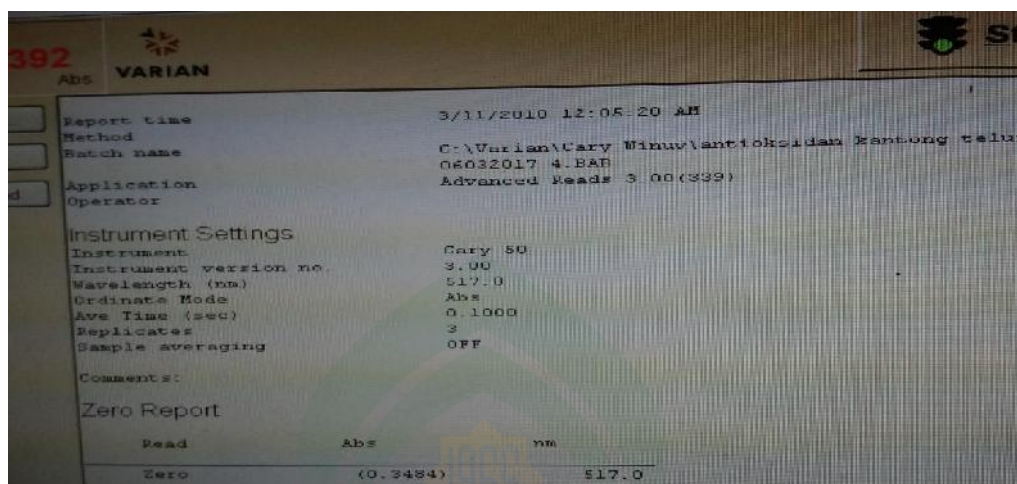
5) Konsentrasi 8000 ppm



| | | | | |
|---|--------|--------|------|--------|
| R | | | | 0.1463 |
| R | | | | 0.1469 |
| R | 0.1465 | 0.0004 | 0.24 | 0.1464 |

e. Ekstrak Kantong Telur

1) Blanko



2) Konsentrasi 2000 ppm

| | | | |
|--------|--------|------|--------|
| | | | 0.2548 |
| | | | 0.2549 |
| 0.2549 | 0.0002 | 0.08 | 0.2552 |

3) Konsentrasi 4000 ppm

| | | | |
|--------|--------|------|--------|
| | | | 0.1929 |
| | | | 0.1934 |
| 0.1934 | 0.0006 | 0.29 | 0.1940 |

4) Konsentrasi 6000 ppm

| | | | |
|--------|--------|------|--------|
| | | | 0.1879 |
| | | | 0.1899 |
| 0.1893 | 0.0012 | 0.65 | 0.1901 |

5) Konsentrasi 8000 ppm

| | | | |
|--------|--------|------|--------|
| | | | 0.1057 |
| | | | 0.1064 |
| 0.1064 | 0.0007 | 0.63 | 0.1071 |

f. Ekstrak Madu

1) Blanko

92

Abs

VARIAN

Start

Report time

3/11/2010 12:14:37 AM

Method

Batch name

C:\Varian\Cary Winuv\antioksidan madu lusu utara

Application

06032017.DAD

Operator

Advanced Bench 2 00(339)

Instrument Settings

Instrument

Cary 50

Instrument version no.

3.00

Wavelength (nm)

317.0

Ordinate Mode

Abs

Avg Time (sec)

0.1000

Replicates

3

Sample averaging

OFF

Comments:

Zero Report

| Read | Abs | nm |
|------|--------|-------|
| Zero | 0.0000 | 317.0 |

2) Konsentrasi 2000 ppm

| | | | | |
|--------|--------|------|--------|--------|
| | | | | 0.3142 |
| | | | | 0.3132 |
| 0.3133 | 0.0008 | 0.26 | 0.3126 | |

3) Konsentrasi 4000 ppm

| | | | | |
|--------|--------|------|--------|--------|
| | | | | 0.2946 |
| | | | | 0.2944 |
| 0.2945 | 0.0001 | 0.04 | 0.2945 | |

4) Konsentrasi 6000 ppm

| | | | | |
|--------|--------|------|--------|--------|
| | | | | 0.2717 |
| | | | | 0.2722 |
| 0.2720 | 0.0002 | 0.08 | 0.2721 | |

5) Konsentrasi 8000 ppm

| | | | | |
|--------|--------|------|--------|--------|
| | | | | 0.2715 |
| | | | | 0.2712 |
| 0.2713 | 0.0001 | 0.05 | 0.2712 | |

BIOGRAFI



Penulis bernama Nabila Aliyah Idris lahir di Lambara Harapan, kabupaten Luwu Timur pada tanggal 14 April 1996. Penulis merupakan anak keempat dari lima bersaudara, buah kasih dari pasangan Idris dan Yuliana Husain. Penulis mulai memasuki jenjang pendidikan pada tahun 2001 di Madrasah Ibtidaiyah Lambara Harapan dan tamat pada tahun 2007. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Negeri 1 Burau dan tamat pada tahun 2010, kemudian melanjutkan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 1 Burau dan tamat pada tahun 2013. Pada tahun 2013 melalui jalur Ujian Masuk Mandiri (UMM) penulis lulus masuk Perguruan Tinggi di Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar ke jenjang S1 pada jurusan Kimia Sains, Fakultas Sains dan Teknologi.

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R